

UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG
Année 2022

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Classification COO (GCB/ABC) des lymphomes non
hodgkiniens B diffus à grandes cellules par intelligence
artificielle**

Présentée et soutenue publiquement le 25 avril 2022
à 18h00 au pôle recherche

Par Marianne Petit

JURY

Président :

Madame le Professeur Emmanuelle LETEURTRE

Asseseurs :

Monsieur le Professeur Abdelmalik TALEB-AHMED

Monsieur le Docteur Jean-Baptiste GIBIER

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur Romain DUBOIS

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Sigles

ABC	<i>Activated B-Cell-like</i>
AFA	Alcool Formol Acide acétique
ALK	<i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>
BCL2	<i>B-Cell Lymphoma 2</i>
BCL6	<i>B-Cell Lymphoma 6</i>
BL	<i>Burkitt Lymphoma</i>
CD20	<i>Cluster of Differentiation 20</i>
CD79a	<i>Cluster of Differentiation 79a</i>
CHRU	Centre Hospitalier Régional Universitaire
CNIL	Commission Nationale Informatique et Libertés
COO	Cell Of Origin
DLBCL	<i>Diffuse Large B-Cell Lymphoma</i>
DPO	<i>Data Protection Officer</i>
EBV	Epstein-Barr Virus
FISH	Fluorescent In Situ Hybridization
GC	<i>Germinal Center-like</i>
GCB	<i>Germinal Center B-cell-like</i>
HES	Hématoxyline Eosine Safran
HHV8	<i>Human HerpesVirus 8</i>
IPI	<i>International Prognostic Index</i>
IRF4	<i>Interferon Regulatory Factor 4</i>
LDH	Lactate déshydrogénase
MAL	<i>Myelin And Lymphocyte protein</i>
MUM1	<i>Multiple Myeloma Oncogene 1</i>

Non GC	Non <i>Germinal Center-like</i>
NOS	<i>Non Other Specified</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PBR	Ponction Biopsie Rénale
PMBL	<i>Primary Mediastinal B-cell Lymphoma</i>
RTMLPA	<i>Reverse Transcriptase Multiplex Ligation-dependant Probe Amplification</i>
SNC	Système Nerveux Central
TdT	<i>Terminal deoxynucleotidyl Transferase</i>
TEP-FDG	tomographie à émission de positrons marquée au 18-F fluorodésoxyglucose
WSI	<i>Whole Slide Image</i>

Sommaire

Avertissement.....	2
Sigles.....	3
Sommaire	5
Introduction.....	10
1 Les DLBCL.....	10
1.1 Définition histologique	10
1.2 Classification OMS 2016	10
2 Les DLBCL NOS	12
3 Quelques entités particulières parmi les DLBCL	12
3.1 Lymphomes B à grandes cellules riches en lymphocytes T et en histiocytes 13	
3.2 Lymphomes B de haut grade	13
3.3 Le lymphome B primitif du médiastin (PMBL).....	14
3.4 Le lymphome B à grandes cellules primitif du SNC.....	14
3.5 Les lymphomes B diffus à grandes cellules EBV+	14
3.5.1 Le lymphome B diffus à grandes cellules EBV+ NOS.....	14
3.5.2 Lymphomes B diffus à grandes cellules associés à l'inflammation chronique.....	15
3.5.3 Granulomatose lymphomatoïde	15
3.6 Lymphomes B à grandes cellules avec réarrangement IRF4	15
4 Epidémiologie.....	16
4.1 <i>Diffuse Large B-cell Lymphoma NOS (Non Other Specified)</i>	16
4.2 <i>Primary Mediastinal B-cell Lymphoma</i>	16
5 Facteurs de risque.....	16
6 Présentation clinique	17
7 Evolution et facteurs pronostiques	17
8 Traitement des DLBCL.....	20
8.1 Bilan pré-thérapeutique	20
8.2 Traitement	20
9 Histologie.....	21
9.1 Morphologie.....	21
9.2 Immunohistochimie.....	23
10 Cellule d'origine (COO).....	23

11	Algorithme de Hans	26
12	Classification par RTMLPA	27
13	Classification morphologique GC vs non GC.....	28
13.1	Lymphome malin centroblastique.....	28
13.1.1	Sous-type monomorphe	28
13.1.2	Sous-type polymorphe.....	29
13.1.3	Sous-type « multilobé »	29
13.1.4	Sous-type centrocytoïde	30
13.2	Lymphome malin immunoblastique.....	31
13.2.1	Lymphome malin immunoblastique sans différenciation plasmocytaire 31	
13.2.2	Lymphome malin immunoblastique avec différenciation plasmocytaire 31	
13.2.3	Lymphome malin immunoblastique avec nombreux lymphocytes	32
14	Intelligence artificielle.....	33
14.1	Définition de l'intelligence artificielle.....	33
14.2	Machine learning.....	34
14.3	Apprentissage supervisé	34
14.4	Équilibrage des classes en machine learning.....	35
14.5	Deep learning.....	35
14.6	Réseaux de neurones artificiels (<i>artificial neural networks</i>).....	36
14.6.1	Fonctionnement.....	36
14.6.2	Phase d'entraînement.....	37
14.6.3	Phase de validation	38
14.6.4	Phase de test.....	38
14.7	Évaluation de la performance.....	38
14.8	Sur-apprentissage (<i>overfitting</i>).....	39
14.9	Les réseaux de neurones convolutifs (<i>convolutional neural networks</i>)	40
14.10	Les WSI (Whole Slide Images)	40
14.11	Intelligence artificielle appliquée à l'anatomopathologie.....	42
14.11.1	Modèles utilisés	42
14.11.2	Exemples d'applications	43
15	Objectif.....	45
	Matériel et méthodes	47
1	Protection des données à caractère personnel	47
2	Sélection des cas	47

3	Critères d'inclusion	49
4	Critères d'exclusion	49
5	Données recueillies	50
6	Relecture histologique	50
7	Scannage des lames	53
8	Données exclues	53
9	Annotation des lames	54
10	Analyse par intelligence artificielle	55
10.1	Matériel et logiciels utilisés	55
10.2	Procédure	55
10.2.1	Résolution utilisée	55
10.2.2	Modèles utilisés et étapes de la procédure	56
	Résultats	57
1	Caractéristiques de la population	57
1.1	Nombre de cas inclus et <i>flowchart</i>	57
1.2	Description des patients à l'inclusion	58
1.3	Type et localisation des prélèvements	59
1.4	Résultats de RTMLPA	61
1.4.1	Résultats globaux	61
1.4.2	Résultats au sein des prélèvements encéphaliques	61
1.5	Résultats pour le nombre de lames scannées	62
2	Résultats de la relecture histologique	63
2.1	Aspect morphologique en HES	63
2.1.1	Relecture par le pathologiste sénior :	63
2.1.2	Relecture par le pathologiste junior :	63
2.2	Immunohistochimie et algorithme de Hans	64
2.2.1	Résultats globaux :	64
2.2.2	Résultats du Hans chez les patients ABC et GCB	64
2.3	Taux de concordance Hans vs RTMLPA parmi ces 160 patients	64
2.4	Taux de concordance morphologie <i>versus</i> RTMLPA parmi les mêmes 160 patients :	65
2.4.1	Morphologie pathologiste sénior <i>versus</i> RTMLPA :	65
2.4.2	Morphologie pathologiste junior <i>versus</i> RTMLPA :	65
3	Résultats de l'analyse des images par intelligence artificielle	65
3.1	Entraînement et validation	67

3.2	Phase de test	67
3.2.1	ResNet et LeNet	67
3.2.2	KimiaNet	68
3.2.3	KimiaNet avec annotation des zones tumorales	68
3.2.4	Modification du ratio ABC/GCB.....	68
	Discussion	69
1	Principaux résultats	69
2	Discussion des résultats.....	70
2.1	Population	70
2.1.1	Age et sexe	70
2.1.2	Population étudiée : les DLBCL	70
2.1.3	Sous-catégories en RTMLPA.....	71
2.1.4	Problématique du PMBL	71
2.2	Points forts de l'étude	72
2.3	Limites de la méthode	72
2.4	Morphologie en HES	73
2.4.1	Résultat global	73
2.4.2	Phase d'apprentissage	73
2.4.3	Cas particuliers	74
2.5	Résultats du Hans	74
2.6	Analyse par intelligence artificielle.....	74
2.6.1	Choix des données utilisées	74
2.6.2	Résultats	75
2.6.3	Environnement péri-tumoral.....	75
2.6.4	Choix d'annoter les zones tumorales	77
2.6.5	Résultats après annotation	78
2.6.6	Visualisation 2D	79
3	Perspectives et intérêt clinique	81
3.1	Morphologie sur HES	81
3.2	Limites et améliorations du Hans.....	81
3.3	Perspectives pour notre modèle d'IA.....	81
3.3.1	Classe « inclassable »	81
3.3.2	Classe PMBL	82
3.3.3	Lames d'immunohistochimie.....	82
3.3.4	Annotation automatique des zones tumorales	83

3.3.5	<i>Workflow</i>	83
3.3.6	Données de survie	83
3.3.7	Augmentation des données	83
3.4	Perspectives générales	83
	Conclusion.....	85
	Liste des tables.....	86
	Liste des figures	87
	Références	89

Introduction

1 Les DLBCL

1.1 Définition histologique

Les DLBCL sont constitués de cellules lymphoïdes B dont les noyaux font au moins deux fois la taille de ceux de lymphocytes normaux, ou au moins la taille de ceux de macrophages, avec une architecture diffuse.

Ils ont été subdivisés en différentes entités en fonction de leurs caractéristiques cliniques, morphologiques et moléculaires. (Figure 1)

Ces multiples variétés histologiques et cliniques expliquent à elles seules une partie de l'hétérogénéité des DLBCL.

Cependant, une partie des cas ne correspondent à aucune de ces entités, et sont classés dans un même groupe « NOS » (*non other specified*), bien qu'ils soient biologiquement hétérogènes.

En dehors des PMBL, la plupart des DLBCL sont classés actuellement dans le groupe dit NOS.

1.2 Classification OMS 2016

Les lymphomes B matures agressifs sont subdivisés de la façon suivante selon la classification OMS 2016 [1] :

- Les DLBCL NOS (80% des lymphomes B matures agressifs)
- Les lymphomes B à grandes cellules riches en lymphocytes T et en histiocytes

- Les DLBCL en rapport avec une topographie particulière (dont les PMBL, les DLBCL primitifs cutanés de type jambe, les lymphomes primitifs du SNC et les lymphomes B à grandes cellules intravasculaires)
- Les DLBCL associés à l'EBV (dont les EBV+ NOS, les DLBCL associés à une inflammation chronique, la granulomatose lymphomatoïde)
- Les lymphomes B à grandes cellules avec différenciation terminale (dont les lymphomes plasmoblastiques, les lymphomes B à grandes cellules ALK+, les lymphomes B associés aux épanchements et les DLBCL HHV8+ NOS)
- Les lymphomes B à grandes cellules avec réarrangement IRF4
- Les lymphomes B de haut grade (dont les double/triple hits et les NOS)
- Les lymphomes à grandes cellules B inclassables avec des aspects intermédiaires entre le DLBCL et le lymphome de Hodgkin classique.

Diffuse large B-cell lymphoma, NOS

Morphological variants

- Centroblastic
- Immunoblastic
- Anaplastic
- Other rare variants

Molecular subtypes

- Germinal centre B-cell subtype
- Activated B-cell subtype

Other lymphomas of large B cells

- T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma
- Primary diffuse large B-cell lymphoma of the CNS
- Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type
- EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma, NOS
- Diffuse large B-cell lymphoma associated with chronic inflammation
- Lymphomatoid granulomatosis
- Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement
- Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma
- Intravascular large B-cell lymphoma
- ALK-positive large B-cell lymphoma
- Plasmablastic lymphoma
- HHV8-positive diffuse large B-cell lymphoma
- Primary effusion lymphoma

High-grade B-cell lymphoma

- High-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements
- High-grade B-cell lymphoma, NOS

B-cell lymphoma, unclassifiable

- B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classic Hodgkin lymphoma

Figure 1. Lymphomes B à grandes cellules, classification OMS 2016

2 Les DLBCL NOS

Les lymphomes B diffus à grandes cellules NOS sont les lymphomes non hodgkiniens les plus fréquents, ils représentent 25 à 35% des lymphomes non hodgkiniens de l'adulte dans les pays développés, et encore plus dans les pays en voie de développement. [1]

En France, ils représentent 4000 à 5000 nouveaux cas par an. [2]

Ces lymphomes sont hétérogènes sur le plan clinique, morphologique, phénotypique, moléculaire et pronostique.

Les DLBCL NOS sont soit secondaires, c'est-à-dire survenant dans l'évolution ou la progression d'un autre type de lymphome, soit *de novo*, c'est-à-dire diagnostiqués sans antécédent connu antérieur de lymphome.

Dans ce deuxième cas, la biopsie peut toutefois, dans une minorité de cas, retrouver dans le même territoire biopsié ou dans un autre territoire un autre type de lymphome (le plus souvent à petites cellules B, dit indolent) que le DLBCL.

Les DLBCL secondaires sont habituellement liés à la progression du lymphome indolent, et la physiopathologie de ces lymphomes secondaires doit faire prendre en compte la lymphomagenèse initiale des entités considérées [3], c'est pourquoi nous ne les étudierons pas dans ce travail.

3 Quelques entités particulières parmi les DLBCL

Voici quelques entités particulières au sein des DLBCL, qui peuvent pour certaines d'entre elles avoir le même aspect morphologique que les DLBCL NOS.

3.1 Lymphomes B à grandes cellules riches en lymphocytes T et en histiocytes

Ces lymphomes sont rares, ils représentent moins de 10% des lymphomes à grandes cellules B.

Ils touchent surtout les sujets âgés et se présentent souvent sous une forme disséminée.

Histologiquement, l'architecture est diffuse, on observe de rares cellules tumorales de grande taille de phénotype B (CD20+, CD79a+) au sein d'un environnement riche en lymphocytes T réactionnels et en histiocytes, mais sans polynucléaires éosinophiles.

3.2 Lymphomes B de haut grade

Ce sont des lymphomes B matures agressifs, de mauvais pronostic, qui ne peuvent pas être classés en lymphomes de Burkitt ni en DLBCL NOS.

Ils n'expriment pas le TdT, ce qui les différencie des lymphomes lymphoblastiques.

Ils sont subdivisés en deux groupes :

- Les lymphomes B de haut grade double ou triple hits, caractérisés par un réarrangement de MYC associé à un réarrangement de BCL2 et/ou de BCL6, quelle que soit leur morphologie
- Les lymphomes B de haut grade NOS, caractérisés par une morphologie soit blastoïde soit intermédiaire entre un DLBCL et un BL.

Les double et triple hit sont souvent de phénotype GC (CD10+ et BCL6+ dans 80% des cas).

3.3 Le lymphome B primitif du médiastin (PMBL)

Cliniquement, les patients se présentent avec des symptômes en rapport avec une masse médiastinale.

Histologiquement, l'architecture est diffuse, une sclérose d'encorbellement est fréquente, parfois associée à un écrasement des cellules. Les cellules sont souvent claires.

Le phénotype immunohistochimique est le suivant : expression des marqueurs B, CD30 faible et partiel, expression du CD23 et de MAL.

3.4 Le lymphome B à grandes cellules primitif du SNC

Il se développe au niveau cérébral, leptoméningé ou intraoculaire. Son pronostic est mauvais.

En immunohistochimie, le phénotype est le plus souvent activé (CD10-, BCL6+ et MUM1+).

3.5 Les lymphomes B diffus à grandes cellules EBV+.

3.5.1 Le lymphome B diffus à grandes cellules EBV+ NOS.

Dans la précédente classification OMS de 2008, il s'intitulait « DLBCL EBV+ du sujet âgé » et était réservé aux patients de plus de 50 ans.

Cette nouvelle entité peut toucher des sujets de tous les âges, avec deux pics d'incidence à 30 et à 80 ans.

Il s'agit d'un lymphome agressif qui touche des patients sans déficit immunitaire connu.

L'aspect morphologique peut ressembler à un lymphome de Hodgkin, à un DLBCL ou à un lymphome B riche en T.

L'immunophénotype est le suivant : expression de marqueurs pan-B, phénotype souvent activé (CD10-, BCL6+, MUM1+), CD30 souvent positif.

L'hybridation in situ avec la sonde EBER est positive dans plus de 80% des cellules tumorales.

3.5.2 Lymphomes B diffus à grandes cellules associés à l'inflammation chronique

Ce lymphome survient dans un contexte particulier d'inflammation au long cours, le plus souvent au niveau de la cavité pleurale ou de l'os (pyothorax, ostéomyélite, implants métalliques). Les cellules tumorales sont EBV+.

3.5.3 Granulomatose lymphomatoïde

Elle survient dans un contexte d'immunosuppression. L'atteinte est le plus souvent pulmonaire, sous forme de nodules pulmonaires bilatéraux avec nécrose centrale. Les cellules tumorales sont EBV+.

3.6 Lymphomes B à grandes cellules avec réarrangement IRF4

Il s'agit d'un sous-type rare de lymphome à grandes cellules B, qui représente 0,05% des DLBCL.

Il touche les enfants et les jeunes adultes, avec une atteinte le plus souvent de l'anneau de Waldeyer ou des ganglions de la tête et du cou.

Il peut être d'architecture diffuse, folliculaire et diffuse, ou entièrement folliculaire.

Il se caractérise par une forte expression de MUM1/IRF4, souvent associée à un réarrangement du gène IRF4. On note aussi une expression de CD10 et de BCL6.

Le pronostic est très bon après traitement. [4]

C'est un lymphome B dérivé du centre germinatif, par conséquent il peut parfois poser un problème de diagnostic différentiel avec les DLBCL NOS de sous-type GCB.

4 Epidémiologie

4.1 Diffuse Large B-cell Lymphoma NOS (Non Other Specified)

Les DLBCL NOS touchent le plus souvent des sujets âgés dans leur septième décennie, avec un âge médian de 64 ans. Ils peuvent aussi toucher les enfants et les jeunes adultes.

Ils sont légèrement plus fréquents chez les hommes que chez les femmes (55% des cas concernent des hommes). [5]

4.2 Primary Mediastinal B-cell Lymphoma

Le lymphome à grandes cellules B primitif du médiastin (PMBL) survient surtout chez les femmes jeunes. L'âge médian de survenue est de 37 ans, et 66% des cas concernent des femmes.

Il survient le plus souvent à un stade moins avancé, mais la survie est la même que dans le reste des DLBCL. [5]

5 Facteurs de risque

L'étiologie des DLBCL reste inconnue.

L'immunodépression et l'infection par l'EBV sont deux facteurs de risque connus. [1]

6 Présentation clinique

Les DLBCL NOS peuvent survenir *de novo* ou après transformation d'un lymphome moins agressif.

La maladie peut avoir une présentation ganglionnaire ou extra-ganglionnaire. La localisation extra-ganglionnaire la plus fréquente est gastro-intestinale, mais toutes les localisations sont possibles.

Le plus souvent, les patients se présentent avec une masse de croissance rapide au niveau d'un ou plusieurs sites ganglionnaire(s) ou extra-ganglionnaire(s).

Des symptômes B, tels que la fièvre, les sueurs nocturnes et la perte de poids, sont présents dans un tiers des cas ; et une élévation des LDH est présente dans plus de la moitié des cas. [6]

7 Evolution et facteurs pronostiques

Sans aucun traitement, l'issue de cette pathologie est fatale.

Avec traitement, avant l'ère du rituximab, la survie globale était de 46% à 5 ans.

Depuis l'adjonction du rituximab aux chimiothérapies, la survie globale à 5 ans est de 65% [7–9], mais l'évolution dépend beaucoup de l'âge du patient, de son état clinique et du stade de la maladie.

L'IPI (*International Prognostic Index*), qui prend en compte 5 variables cliniques, a un grand intérêt pronostic.

En effet, les patients ayant un index IPI (international prognostic index) de 0 ou de 1 ont une survie globale de 73% à 5 ans, tandis que les patients ayant un index IPI de 4 ou de 5 ont une survie globale de 22% à 5 ans. [5]

Actuellement, la classification pronostique la plus performante est le NCCN-IPI (*National Comprehensive Cancer Network International Prognostic Index*), qui est un index IPI amélioré, et qui prend en compte les 5 variables cliniques suivantes :

- L'âge
- Le taux de LDH (lactate déshydrogénase)
- Le nombre de sites extra-ganglionnaires atteints
- Le stade Ann Arbor
- Le *performance status* ECOG.

Le NCCN-IPI est largement utilisé pour stratifier les patients en 4 catégories de risque : faible, faible/intermédiaire, intermédiaire/élevé ou élevé.

Cependant, il est insuffisant pour guider la prise en charge thérapeutique à l'échelle individuelle de chaque patient. [10]

	IPI	Score	NCCN-IPI	Score
Age (years)	≤ 60	0	≤ 40	0
	> 60	1	41-60	1
			61-75	2
			> 75	3
Ann Arbor stage	I-II	0	I-II	0
	III-IV	1	III-IV	1
ECOG performance status	0-1	0	0-1	0
	≥ 2	1	≥ 2	1
Extranodal sites	0-1	0	No distinct sites*	0
	≥ 2	1	Any distinct sites*	1
Serum LDH, normalized ratio	≤ 1	0	≤ 1	0
	> 1	1	>1 to ≤ 3	1
			> 3	2
Risk scoring	low	0-1	low	0-1
	Low-intermediate	2	Low-intermediate	2-3
	High-intermediate	3	High-intermediate	4-5
	High	4-5	High	≥ 6

Figure 2. Index IPI et NCCN-IPI

Stage	
I	Involvement of a single lymphatic region (I) or localised involvement of single extralymphatic organ or site (IE)
II	Involvement of two or more lymphatic regions on the same side of the diaphragm (II) or localised involvement of a single extralymphatic organ or site and of one or more lymphatic regions on the same side of the diaphragm (IIE)
III	Involvement of lymphatic regions on both sides of the diaphragm
IV	Diffuse or disseminated involvement of one or more extralymphatic organs with or without lymphatic involvement

Figure 3. Classification d'Ann Arbor

0	Activité normale
1	Capable de réaliser de petits travaux
2	Incapable de travailler, capable de s'occuper de lui-même, debout plus de 50% du temps
3	Confiné au lit ou dans un fauteuil plus de 50% du temps
4	Confiné au lit, incapable de s'occuper de lui-même

Figure 4. Echelle de performance de l'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)

Les autres facteurs pronostiques cliniques associés à un moins bon pronostic sont les masses tumorales de plus de 10 cm, le sexe masculin, le déficit en vitamine D, l'indice de masse corporelle bas, les chaînes légères sériques libres augmentées, les IgM sériques monoclonales et l'envahissement médullaire. [1]

8 Traitement des DLBCL

8.1 Bilan pré-thérapeutique

Le bilan initial lors du diagnostic comprend :

- Anamnèse, examen clinique
- La biopsie (le plus souvent ganglionnaire)
- L'évaluation de l'état général du patient à l'aide de l'échelle ECOG (Figure 4)
- Bilan biologique (dont LDH, sérologies)
- Scanner thoraco-abdominal et cervical
- TEP-FDG
- Biopsie ostéo-médullaire.

D'autres examens peuvent être nécessaires en fonction des présentations cliniques particulières, comme par exemple les formes primitives testiculaires ou les formes primitives cérébrales (échographie testiculaire, IRM cérébrale, etc). [11,12]

8.2 Traitement

Les DLBCL sont des lymphomes très chimiosensibles.

Leur traitement repose sur une immunochimiothérapie couplant le rituximab à une polychimiothérapie dont les composants, leurs posologies et leurs fréquences

d'administration dépendent de variables pronostiques pré-thérapeutiques, ainsi que de l'âge et de l'état clinique du patient.

L'association médicamenteuse la plus souvent administrée lors du traitement initial est appelée R-CHOP et est constituée de cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone, associés au rituximab.

La radiothérapie est également recommandée dans certaines situations cliniques, notamment pour les lymphomes primitifs cérébraux et les PMBL.

Le traitement diffère pour les patients de 60 ans ou moins, pour les patients de 61 à 80 ans, et pour les patients de plus de 80 ans, notamment en termes de nombre de cures et de dosage des médicaments.

D'autres agents peuvent être ajoutés en cas de sous-type moléculaire ABC pour améliorer le pronostic, tels que le bortezomib, le lenalidomide ou l'ibrutinib [13–17]

D'autres associations de chimiothérapies sont préconisées pour les traitements de 2^{ème} et de 3^{ème} ligne. En cas de rechute, la greffe de cellules souches du sang périphérique est également une option thérapeutique. [11,12]

9 Histologie

9.1 Morphologie

Il s'agit par définition, d'un lymphome B d'architecture diffuse, composé de cellules de taille moyenne à grande, c'est-à-dire dont la taille est au moins deux fois supérieure à celle du noyau d'un lymphocyte normal.

Au niveau des ganglions lymphatiques, l'architecture apparaît partiellement ou le plus souvent entièrement effacée. L'envahissement ganglionnaire partiel peut être interfolliculaire ou plus rarement sinusoidal.

Il s'agit d'un groupe de lymphomes hétérogène.

La classification OMS 2016 reconnaît 3 aspects morphologiques principaux : centroblastique (le plus fréquent), immunoblastique et anaplasique.

Ces trois variants peuvent être associés à un nombre important des lymphocytes T et/ou d'histiocytes.

Le variant morphologique centroblastique est le plus fréquent. Il est constitué majoritairement de centroblastes (cellules à noyaux comportant 2 à 4 nucléoles connectés à la membrane nucléaire), parfois mêlés à des immunoblastes (<90% d'immunoblastes). Il est plus souvent associé au sous-type moléculaire GCB. [18]

Le variant immunoblastique (défini par la présence d'une majorité (>90%) de cellules à noyau contenant un volumineux nucléole central unique) semble associé à une réduction de la survie globale. [1,19,20]

Cependant, la distinction entre le variant morphologique centroblastique et le variant immunoblastique a montré une mauvaise reproductibilité intra- et inter-observateur.

Le variant anaplasique est caractérisé par des cellules de grande taille, avec des noyaux pléomorphes et « bizarres », qui peuvent ressembler à des cellules de Hodgkin ou de Reed-Sternberg. Les cellules peuvent parfois être cohésives, mimant un carcinome indifférencié. [21]

9.2 Immunohistochimie

Les cellules tumorales sont des cellules lymphoïdes matures de type B.

Elles expriment généralement les marqueurs « pan-B » comme le CD19, le CD20, le CD22, le CD79a, et PAX5, mais un ou plusieurs de ces marqueurs peuvent manquer.

CD30 peut être exprimé dans 10 à 20% des cas, surtout dans le variant anaplasique.

[22]

CD5 est exprimé dans 5 à 10% des cas. Les DLBCL CD5+ sont le plus souvent des DLBCL *de novo*. On peut les distinguer d'un variant pléomorphe ou blastoïde d'un lymphome à cellules du manteau par l'absence d'expression de cycline D1 et/ou de SOX11. [23]

L'expression de MYC et BCL2 est variable. Les lymphomes présentant une co-expression de ces deux protéines sont appelés « double-expressesurs », ils sont plus fréquents dans le sous-type ABC. [24]

Avec un seuil de 30% de cellules tumorales marquées, CD10 est positif dans 30 à 50% des cas, BCL6 dans 60 à 90% des cas et MUM1 dans 35 à 65% des cas. La co-expression de BCL6 et MUM1 est retrouvée dans 50% des cas. [25,26]

L'indice de prolifération Ki67 est élevé, en général largement supérieur à 40% et peut être supérieur à 90%. [27]

10 Cellule d'origine (COO)

Dans les DLBCL, les gènes des immunoglobulines réarrangées portent des mutations caractéristiques d'une hypermutation somatique, un processus de diversification des anticorps qui a normalement lieu au sein des centres germinatifs des organes

lymphoïdes secondaires. Cela suggère que les DLBCL sont issus soit des cellules B du centre germinatif, soit de cellules B à un stade plus avancé de différenciation. [28,29]

Au début des années 2000, les analyses transcriptomiques, réalisées sur puce à ADN, ont permis de classer les DLBCL en deux sous-catégories (GCB et ABC) [30] ou en trois sous-catégories biologiques distinctes : les DLBCL de type centrofolliculaire (GCB, pour germinal center B-cell-like), les DLBCL de type activé B périphérique (ABC, pour activated B-cell-like), et les lymphomes B primitifs du médiastin (PMBL). [18]

Ces derniers ont une signature moléculaire intermédiaire entre les lymphomes de Hodgkin classique d'une part et les DLBCL d'autre part. [31]

Les DLBCL GCB sont caractérisés par un haut niveau d'expression des gènes habituellement observés dans les cellules B du centre germinatif (CD10, BCL6, LMO2, etc.) alors que les DLBCL ABC ont une signature transcriptomique comparable à celle de lymphocytes activés B périphériques sanguins (MUM1/IRF4, cycline D2, FOXP1, BCL2, etc.). L'origine cellulaire supposée des DLBCL ABC serait post-centro-germinative. Environ 10 à 15% des DLBCL NOS restent inclassés (« type 3 »), avec un profil transcriptomique intermédiaire entre celui des DLBCL GCB et ABC.

A stade IPI comparable, le pronostic des patients apparaît beaucoup plus péjoratif pour les DLBCL ABC, avec un taux de survie globale à deux ans de 46% contre 78% pour les DLBCL GCB, à l'ère du rituximab ($p < 0,001$). [14]

Différents algorithmes immunohistochimiques ont été développés, permettant de déduire de façon plus ou moins fiable le profil GCB versus ABC en fonction de l'expression immunohistochimique de différentes protéines.

La plupart de ces algorithmes ont un résultat binaire et classent les patients en phénotype centrogerminatif (GC) ou non centrogerminatif (non GC). Par conséquent, les 10 à 15% de cas inclassés sur le plan moléculaire (« type 3 ») se retrouvent classés par erreur dans l'une de ces deux catégories GC ou non GC.

L'algorithme le plus utilisé est celui de Hans, publié en 2004 et qui est basé sur l'utilisation du CD10, BCL6 et MUM1 avec un seuil de positivité fixé à 30% pour chacun de ces trois marqueurs.[32]

D'autres algorithmes existent comme ceux de Visco-Young, Choi, Muris, Nyman et Tally. [33,34]

En pratique, l'algorithme de Hans manque de reproductibilité interlaboratoire et interobservateur, mais reste le seul utilisé en France. [35]

Les profils transcriptomiques initialement publiés reposaient sur l'utilisation de matériel congelé. En pratique, il n'est pas toujours possible de disposer de matériel cryopréservé. Par conséquent, de nouvelles techniques de biologie moléculaire ont été développées, permettant de déterminer le profil ABC, GCB et « inclassé » à partir de matériel fixé en formol et inclus en paraffine. C'est le cas en particulier de la technologie NanoString et de la RT-MLPA, basées sur les niveaux d'expression de 20 et 14 gènes respectivement. [36,37]

La valeur pronostique du profil GCB versus ABC déterminé par ces techniques, qui sont toutes deux facilement utilisables en routine, a bien été démontrée sur la survie globale et sur la survie sans progression. Par ailleurs, elles apparaissent plus

performantes dans la détermination du profil GCB versus ABC que les algorithmes immunohistochimiques. Enfin, elles identifient les cas « inclassés » sur le plan moléculaire, ce que ne permet pas l'immunohistochimie. [36,37]

Les fréquences relatives des sous-types GCB et ABC sont en moyenne respectivement de 60% et 40%. [37]

11 Algorithme de Hans

L'algorithme de Hans est un algorithme permettant de classer les DLBCL en 2 classes, GCB et non GCB à l'aide de 3 anticorps en immunohistochimie. [32]

Ces 3 anticorps sont dirigés contre CD10, BCL6 et MUM1.

Le seuil retenu pour la positivité est de 30% pour chacun des 3 anticorps.

L'algorithme suivant permet de classer les DLBCL.

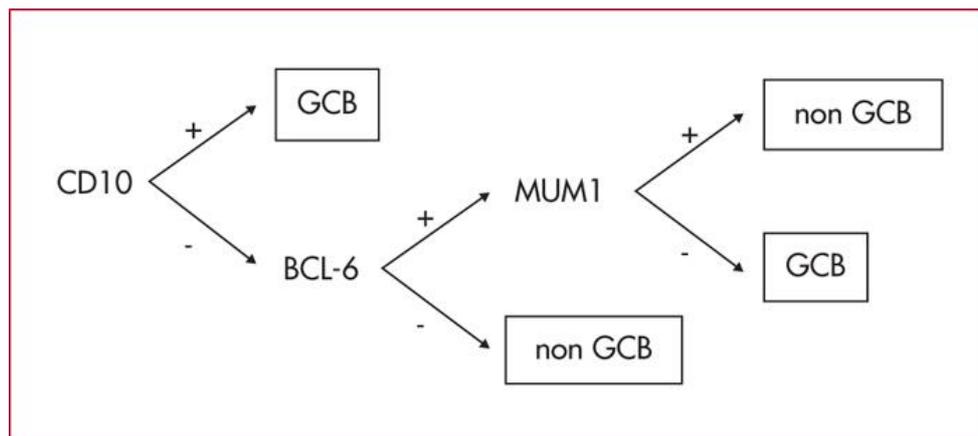


Figure 5. Algorithme de Hans [32]

Les résultats obtenus avec l'algorithme de Hans sont une survie globale à 5 ans de 76% pour le groupe « GCB », et une survie globale à 5 ans de 34% pour le groupe

« non GCB », soit un résultat comparable à celui obtenu par la signature moléculaire.
[18,30]

Cependant, cet algorithme classe en deux catégories, et ne tient pas compte d'une troisième catégorie « inclassée ».

L'algorithme de Hans est basé sur l'immunohistochimie, une technique qui demande habituellement 24 à 48h dans un laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques, pour un coût modéré.

12 Classification par RTMLPA

La technique par RTMLPA (*reverse transcriptase multiplex ligation-dependant probe amplification*) étudie simultanément l'expression de 21 marqueurs pour établir un profil d'expression génique. [36]

Elle permet de différencier les PMBL, les sous-types ABC et GCB et aussi de mettre en évidence les DLBCL positifs pour l'EBV.

Elle sera considérée dans ce travail comme le gold standard (méthode de référence), car elle a montré récemment dans notre centre une très bonne corrélation avec la survie (travail en cours de publication).

Elle a l'avantage de pouvoir être réalisée sur des tissus fixés par le formol et inclus en paraffine.

L'ARN est extrait des blocs de paraffine ou de tissus congelés. Une reverse transcription est effectuée, puis une réaction de PCR multiplex est réalisée avec des sondes spécifiques.

Par rapport à la signature moléculaire sur puces à ADN (non adaptée à la pratique clinique courante), elle a montré une classification correcte dans 85% des cas.

Les inconvénients de cette technique sont sa durée de rendu de plusieurs jours, et son coût élevé.

13 Classification morphologique GC vs non GC

L'utilisation des critères morphologiques centroblastiques et immunoblastiques pour classer les DLBCL NOS a été presque abandonnée dans la dernière classification OMS, qui prône l'algorithme de Hans pour déterminer le statut ABC ou GCB.

C'est pourquoi nous avons utilisé la classification suivante, plus ancienne, mais beaucoup plus détaillée en termes de morphologie.

Cette classification morphologique des lymphomes malins à grandes cellules est issue du livre « histopathologie des lymphomes malins non hodgkiniens selon la classification de Kiel actualisée » de K.Lennert et A.C.Feller. [38]

Elle distingue deux grandes catégories : centroblastique et immunoblastique.

13.1 Lymphome malin centroblastique

Il comprend 4 sous-types morphologiques : monomorphe, polymorphe, « multilobé » et centrocytoïde.

13.1.1 Sous-type monomorphe

Plus de 60% des cellules tumorales sont des centroblastes typiques, de taille moyenne ou grande. Les noyaux sont ronds, avec une chromatine fine, relativement clairs. Dans 1/3 des cas les noyaux peuvent être pléomorphes au lieu d'être ronds

mais avec le même aspect. Les noyaux contiennent 2 à 4 nucléoles de taille petite à moyenne, souvent disposés contre la membrane nucléaire. Le cytoplasme est réduit et basophile. (Figure 6)

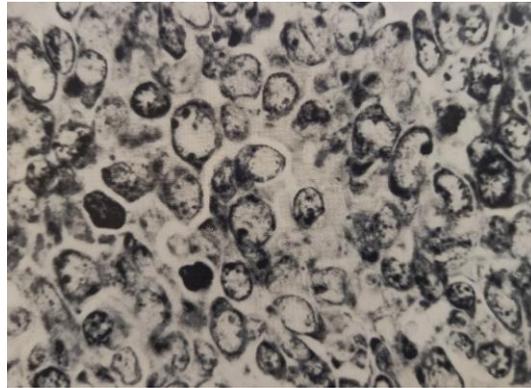


Figure 6. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type monomorphe, d'après [38]

13.1.2 Sous-type polymorphe

Association de centroblastes typiques, de centroblastes centrocytoïdes, d'immunoblastes, et souvent aussi de centroblastes à noyaux multilobés. (Figure 7)

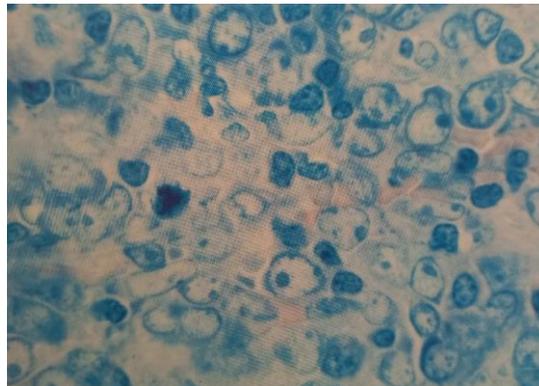


Figure 7. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type polymorphe, d'après [38]

13.1.3 Sous-type « multilobé »

Plus de 10 à 20% de cellules tumorales comportent un noyau multilobé, dont la lobulation apparaît au premier coup d'œil. Il y a en général 3 à 4 lobes. Les cellules sont le plus souvent moyennes, parfois grandes. La chromatine est fine, les

nucléoles sont difficiles à voir. Lorsqu'ils sont visibles, ils sont de taille moyenne et siègent souvent contre la membrane nucléaire. (Figure 8)

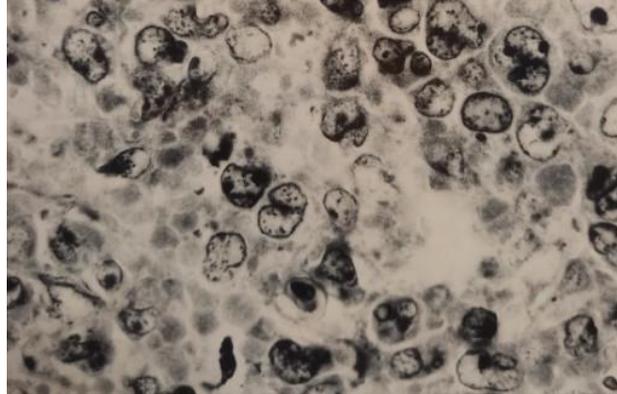


Figure 8. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type "multilobé", d'après [38]

13.1.4 Sous-type centrocytoïde

Les cellules ont un aspect intermédiaire entre le centrocyte et le centroblaste. Elles sont relativement petites, avec un noyau allongé ou ovalaire ou irrégulier. Elles contiennent 2 à 5 petits nucléoles basophiles au centre du noyau. Le cytoplasme est réduit, basophile. (Figure 9)

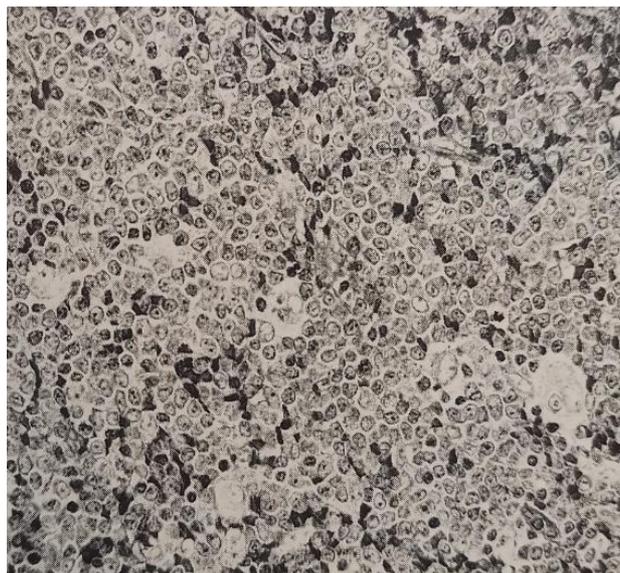


Figure 9. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type centrocytoïde, d'après [38]

13.2 Lymphome malin immunoblastique

Il comprend 3 sous-types morphologiques : « sans différenciation plasmocytaire », « avec différenciation plasmocytaire » et « avec nombreux plasmocytes ».

13.2.1 Lymphome malin immunoblastique sans différenciation plasmocytaire

Les cellules tumorales sont volumineuses, d'aspect immunoblastique, avec des noyaux ovalaires, clairs, contenant un gros nucléole souvent unique et central. Le cytoplasme est basophile. (Figure 10)

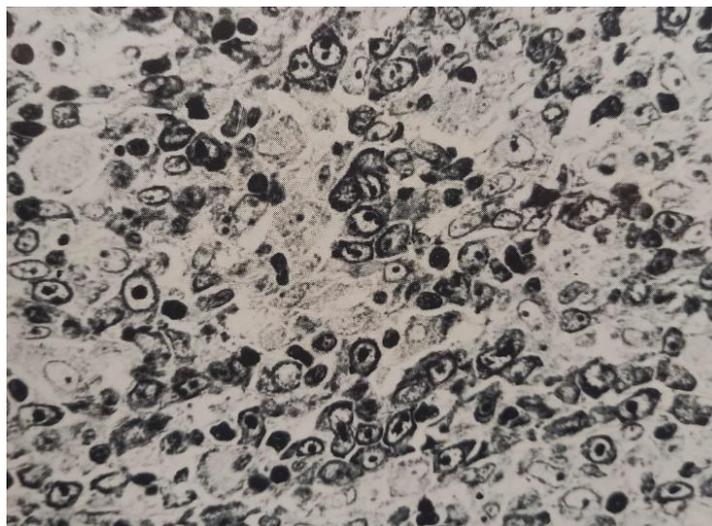


Figure 10. Exemple de morphologie immunoblastique sans différenciation plasmocytaire, d'après [38]

13.2.2 Lymphome malin immunoblastique avec différenciation plasmocytaire

Les immunoblastes sont un peu plus petits, leur noyau est rond, souvent excentré. Les nucléoles sont volumineux, basophiles, solitaires ou multiples, sans contact avec la membrane nucléaire. Le cytoplasme est basophile, souvent mieux développé d'un côté, et comporte une zone claire correspondant à un appareil de Golgi hypertrophique. Présence de plasmocytes associés. (Figure 11)

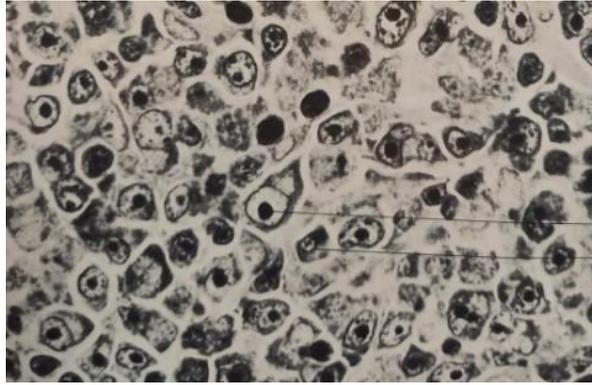


Figure 11. Exemple de morphologie immunoblastique avec différenciation plasmocytaire, d'après [38]

13.2.3 Lymphome malin immunoblastique avec nombreux lymphocytes

Les grands immunoblastes sont tantôt regroupés en larges amas, tantôt dispersés en grande quantité sur un fond lymphocytaire. (Figure 12)

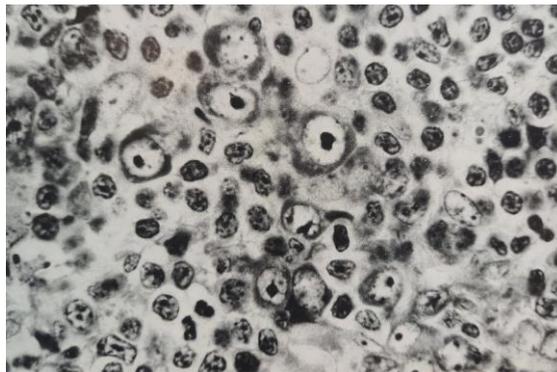


Figure 12. Exemple de morphologie immunoblastique avec nombreux lymphocytes, d'après [38]

Au total pour les lymphomes immunoblastiques, la plupart des cellules sont des immunoblastes B. Une association à des cellules de la lignée plasmocytaire ou à des lymphocytes est possible. Les centroblastes et les autres cellules centrofolliculaires doivent représenter moins de 10% des cellules.

14 Intelligence artificielle

14.1 Définition de l'intelligence artificielle

L'intelligence artificielle est un champ scientifique qui se consacre à l'automatisation des tâches intellectuelles habituellement réalisées par les humains. Le « *machine learning* » et le « *deep learning* » sont des méthodes spécifiques pour y parvenir. L'intelligence artificielle comprend aussi des approches qui n'impliquent aucun apprentissage (« *learning* »), mais où toutes les règles sont codées manuellement par des humains.

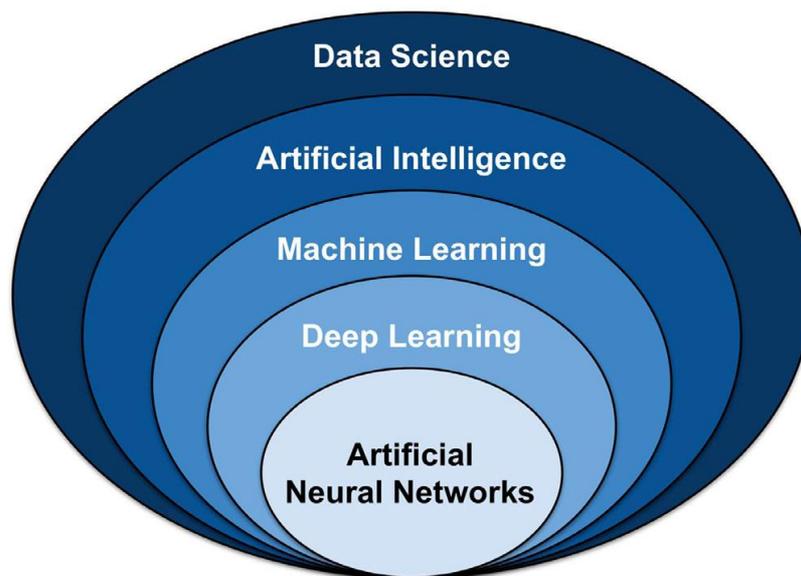


Figure 13. Data Science [39]

Ces programmes, appelés intelligence artificielle symbolique, ne permettent cependant pas de réaliser des tâches plus complexes, telles que la reconnaissance vocale ou la classification d'images. Pour ces tâches plus complexes, le *machine learning* et le *deep learning* sont plus performants. [39]

14.2 Machine learning

Le *machine learning* est un champ qui se focalise sur l'apprentissage au sein du domaine de l'intelligence artificielle.

Au contraire de la programmation classique où le programme est codé manuellement avec des instructions spécifiques pour effectuer une tâche donnée, ici le programme est entraîné à l'aide de données et d'algorithmes qui lui donnent la capacité de réaliser une tâche sans qu'on lui ait explicitement dit comment y parvenir.

L'algorithme analyse des données et apprend seul les caractéristiques qui les classent dans l'une ou l'autre des catégories données. [40]

En *machine learning*, il y a 4 principales méthodes d'apprentissage qui peuvent être utilisées :

- apprentissage supervisé
- apprentissage non supervisé
- apprentissage semi-supervisé
- apprentissage par renforcement.

14.3 Apprentissage supervisé

Le modèle apprend à partir de données qui ont déjà été labellisées, c'est-à-dire que quelqu'un a déjà attribué un label à chaque donnée (soit une catégorie, soit une variable, soit un attribut). C'est la méthode d'apprentissage que nous allons utiliser dans ce travail.

Les jeux de données (*datasets*) utilisés sont habituellement répartis pour les différentes étapes en jeux de données d'apprentissage, de validation et de test.

Le jeu de données de test sert à évaluer la performance de l'algorithme, à l'aide de données qu'il n'a jamais vues avant.

En résumé, les différentes étapes du *machine learning* supervisé sont :

- Obtenir un jeu de données et le séparer en données d'entraînement, de validation et de test
- Utiliser les données d'entraînement et de validation pour que le modèle apprenne la relation entre les caractéristiques des données et la « cible »
- Evaluer le modèle à l'aide des données de test pour déterminer sa performance.

[39]

14.4 Equilibration des classes en machine learning

En *machine learning*, il faut autant que possible équilibrer les différentes classes que le modèle doit apprendre à distinguer.

Si un modèle est exposé lors de l'entraînement à des données biaisées, penchant plus vers une classe qu'une autre, il a plus de risque ensuite d'être biaisé en faveur de cette classe majoritaire. Ainsi cette asymétrie de représentativité des classes peut avoir un impact sur les résultats finaux d'un modèle.

14.5 Deep learning

Le *deep learning* est une branche du *machine learning* qui utilise des algorithmes inspirés par la structure et la fonction des réseaux neuronaux du cerveau humain.

14.6 Réseaux de neurones artificiels (*artificial neural networks*)

14.6.1 Fonctionnement

Ce sont des modèles de *deep learning* basés sur la structure et la fonction des réseaux de neurones du cerveau.

Les neurones des réseaux de neurones artificiels sont organisés en différentes couches :

- Couche d'entrée (*input layer*)
- Couche cachée (*hidden layer*)
- Couche de sortie (*output layer*).

S'il y a plus qu'une couche cachée, ces réseaux sont appelés réseaux de neurones artificiels profonds (*deep artificial neural networks*) (Figure 14).

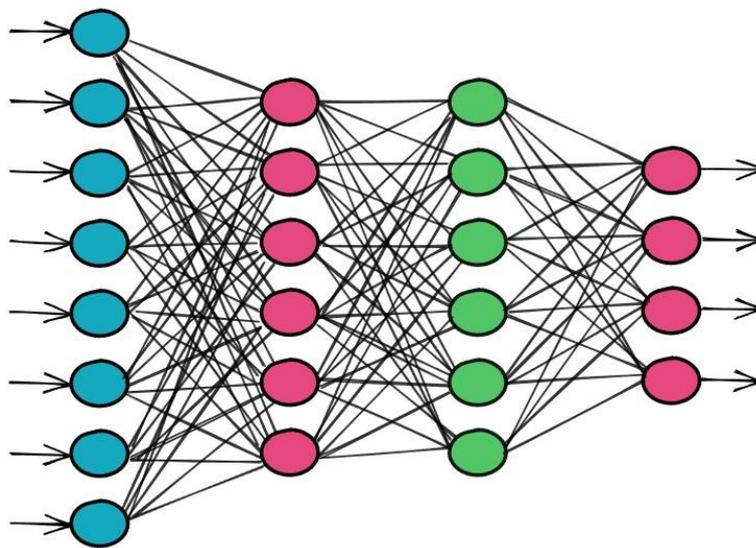


Figure 14. Réseau de neurones artificiels [40]

Chaque connexion entre deux neurones transmet un signal d'un neurone à l'autre. Le neurone qui reçoit le signal le traite puis envoie un signal aux neurones en aval.

Ainsi le signal parcourt le réseau de l'entrée vers la sortie.

Les différentes couches du réseau opèrent des transformations différentes sur le signal d'entrée.

Au départ, à l'initialisation du modèle, les pondérations sont réglées sur des valeurs arbitraires, grâce auxquelles le modèle nous donne un « *output* » pour un « *input* » donné. C'est-à-dire que chaque neurone effectue une somme pondérée des signaux qui lui arrivent, et compare ce résultat à un seuil. Si le résultat est supérieur au seuil, le neurone envoie alors un signal à son tour, et ce jusqu'à la dernière couche du réseau, qui produit donc le résultat final.

Suite à cela, le taux d'erreur est calculé et est utilisé par le modèle pour ajuster ses pondérations.

Ainsi, à chaque itération, le modèle ajuste ses pondérations pour réduire son taux d'erreur.

Quand on entraîne le réseau de neurones, on optimise les résultats en répétant de nombreuses fois (itérations) le passage du signal dans le réseau.

Si on utilise ces réseaux de neurones artificiels profonds sur des images histologiques, il faudra autant de neurones d'entrée que de pixels sur la lame histologique ; on utilisera potentiellement des centaines de couches cachées ; et le nombre de neurones de sortie dépendra de la question posée, par exemple deux neurones de sortie si on veut classer les images en deux catégories.

14.6.2 Phase d'entraînement

Cette phase consiste à trouver les poids du modèle qui aboutissent à la meilleure performance.

Il s'agit d'un procédé itératif comprenant plusieurs époques (une époque correspond à une itération) pendant lesquels le réseau ajuste ses poids en fonction de son taux d'erreur, jusqu'à arriver à un plateau avec une *accuracy* (exactitude) maximale.

Par exemple, on va réaliser 60 époques avec des ajustements entre chaque époque, jusqu'à arriver à un plateau avec une *accuracy* de 100%.

14.6.3 Phase de validation

Elle consiste également en une succession d'époques (60 aussi, par exemple), mais on ne calcule pas le taux d'erreur entre chaque époque, on laisse le modèle classer les échantillons en fonction de ce qu'il a appris pendant l'entraînement. On choisira cette fois la meilleure époque des toutes, pas forcément la dernière.

14.6.4 Phase de test

Pour la phase de test, on ne fournit pas au modèle les labels des échantillons, afin de se mettre en conditions réelles.

14.7 Evaluation de la performance

Pour évaluer un modèle on peut utiliser plusieurs mesures :

- L'exactitude (*accuracy*) : il s'agit du pourcentage de bonnes prédictions (positives ou négatives).
- La précision (*precision*) : il s'agit du taux de bonnes prédictions parmi les prédictions positives (vrais positifs/(vrais positifs + faux positifs))
- Le rappel (*recall*) : il s'agit du taux de bonnes prédictions parmi les données positives (vrais positifs/(vrais positifs + faux négatifs))

- La F-mesure (*F-score*) : c'est une mesure qui combine la précision et le rappel, elle a pour but de donner une moyenne harmonique = $2 \times \text{précision} \times \text{rappel} / (\text{précision} + \text{rappel})$.

14.8 Sur-apprentissage (*overfitting*)

Il s'agit d'un problème majeur du *Deep Learning* et du *Machine Learning* en général.

Les réseaux de neurones sont très sensibles à ce problème car ce sont de puissants modèles.

Le sur-apprentissage signifie que le modèle a, dans une proportion variable, appris les données d'entraînement par cœur lors de l'apprentissage.

Le set de validation a ainsi pour but de déterminer si le modèle a appris les données d'entraînement par cœur, ou s'il a appris à résoudre le problème et est ainsi capable de se généraliser.

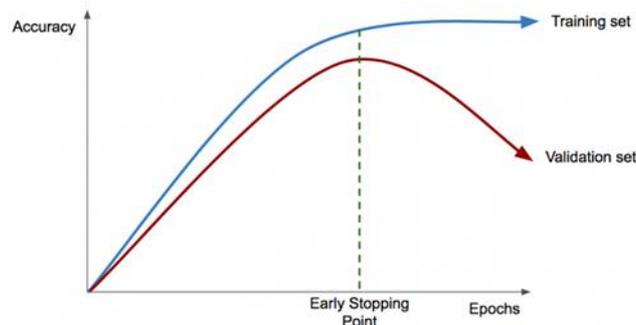


Figure 15. Early Stopping Point

Sur la Figure 15, on voit que si on dépasse un certain nombre d'itérations, le modèle va certes améliorer légèrement ses performances sur les données d'entraînement, mais va perdre sa capacité à se généraliser aux données de validation, ce que l'on appelle l'*overfitting*.

14.9 Les réseaux de neurones convolutifs (*convolutional neural networks*)

Dans un réseau de neurones artificiel classique, chaque neurone de la couche d'entrée correspond à un pixel de l'image, mais il n'y a pas de connexion entre les différents neurones d'une même couche. Cela signifie que le contexte spatial de chaque pixel est perdu.

Un réseau de neurones convolutif est un réseau de neurones particulier, adapté à l'analyse d'images, qui conserve la relation spatiale entre les différents pixels d'une image. [39]

14.10 Les WSI (Whole Slide Images)

Une Whole Slide Image est ce que l'on obtient suite au scannage d'une lame histologique. Il s'agit d'une compilation d'images de différentes résolutions d'une lame (Figure 16).

L'image brute obtenue à la sortie du scanner est excessivement grande en termes de pixels : plusieurs dizaines de milliards de pixels pour une WSI, contre une quarantaine de millions de pixels pour une photo issue d'une caméra de smartphone récent.

Cette résolution est justifiée par le fait qu'elle permet à l'anatomopathologiste d'apprécier les détails du tissu et des cellules essentiels au diagnostic, mais il n'est pas possible d'afficher cette image entière sur un écran de taille standard. C'est pourquoi, en plus de cette image, sont ajoutées au fichier des images à plus faible résolution créées artificiellement, comme si l'on avait scanné la lame avec des grossissements plus faibles (X100, X50, ...).

Ces images à plus faible résolution sont appelées « niveaux », tels les différents niveaux d'une pyramide, le niveau 1 étant celui avec la plus grande résolution (Figure 16).

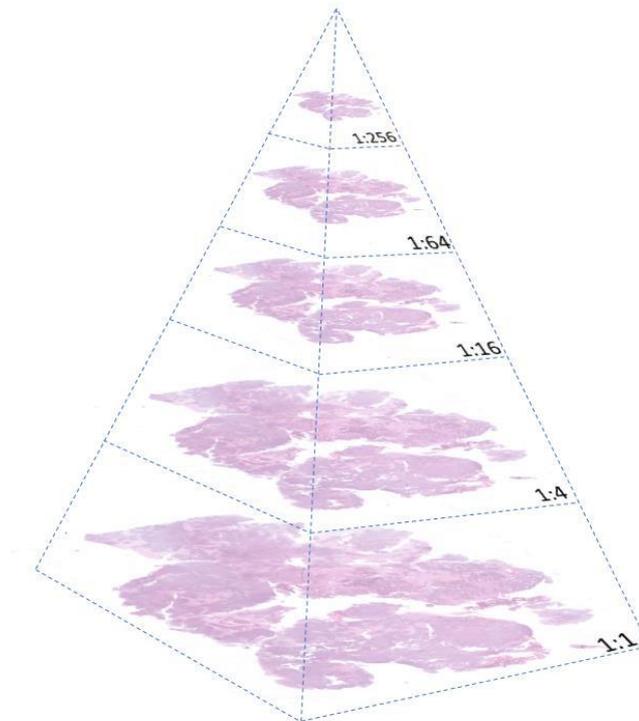


Figure 16. Whole Slide Image

Cette résolution élevée ne pose pas seulement un souci d'affichage mais aussi un souci de traitement d'image. Par traitement d'image nous entendons toutes les opérations qui peuvent être appliquées à une image. En raison du nombre de pixels élevé, ces opérations peuvent être longues et source de consommation intense d'énergie.

Cela pose également un problème pour l'utilisation de ces images en intelligence artificielle, car les modèles utilisés en *Deep Learning* sont majoritairement développés pour travailler sur des images allant de quelques milliers à quelques centaines de milliers de pixels, voire dans de rares cas jusqu'à un million de pixels.

C'est pourquoi, usuellement, une WSI est découpée en tuiles de tailles identiques couvrant l'intégralité du tissu présent dans la lame. (

Figure 17)

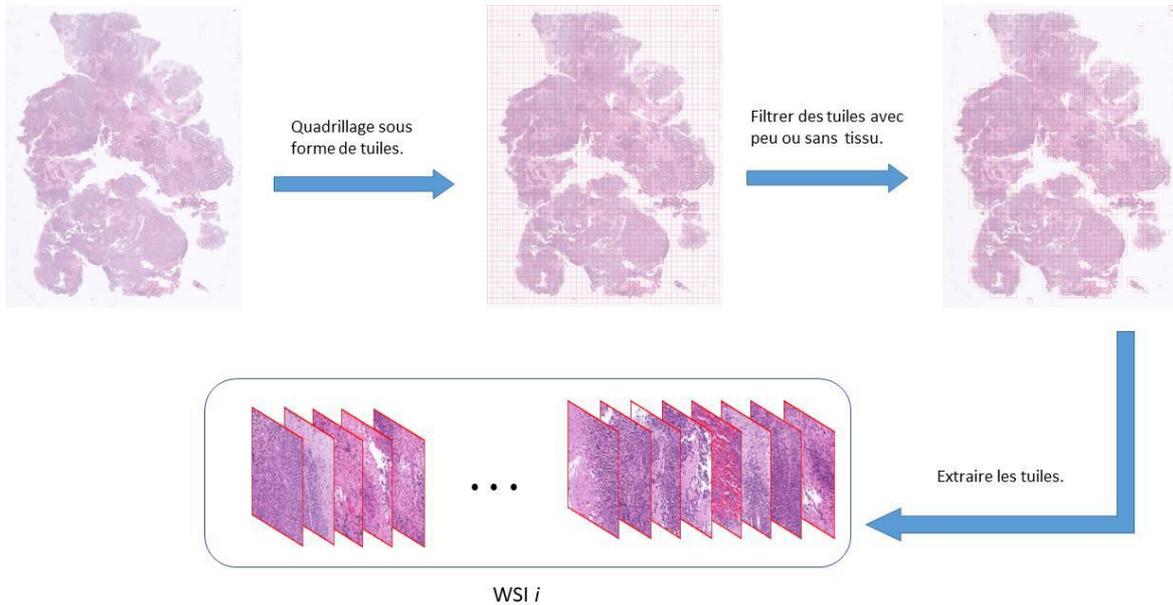


Figure 17. Extraction des tuiles à partir d'une WSI

A ce découpage en tuiles, s'ajoute la possibilité d'utiliser d'autres résolutions (niveaux 2, 3, etc).

14.11 Intelligence artificielle appliquée à l'anatomopathologie

L'application de l'intelligence artificielle à la médecine et en particulier au diagnostic sur lames histopathologiques est un sujet déjà bien étudié par la communauté scientifique.

14.11.1 Modèles utilisés

Il existe plusieurs architectures de réseaux de neurones convolutifs avec chacune ses particularités, et certaines sont devenues incontournables. Aujourd'hui, la règle est de commencer par utiliser ces architectures prêtes à l'emploi, dont l'efficacité sur

différentes problématiques a déjà été expérimentalement confirmée. Dans un second temps, nous pouvons utiliser des combinaisons d'architectures afin d'enrichir et d'améliorer les résultats.

KimiaNet, par exemple, est un modèle qui emprunte l'architecture DenseNet et qui a montré des résultats prometteurs sur un grand nombre de problématiques de classification. Ce modèle a été entraîné sur une base de données publique contenant plus de 7000 lames histopathologiques regroupant 32 types de cancer différents (le DLBCL n'en faisant pas partie) et provenant d'organes très variés. [41,42]

L'avantage d'utiliser un modèle entraîné sur des lames histopathologiques est que l'on se base sur sa capacité à extraire des informations pertinentes sur l'analyse de tissus, au contraire des modèles entraînés sur des images « classiques » (photos d'animaux ou d'objets par exemple), comme ImageNet. [43]

Le fait d'utiliser un modèle pré-entraîné et de l'entraîner sur nos propres données s'appelle le *fine-tuning* et cette pratique a été rapidement adoptée en raison de son efficacité notamment lorsque les données sont peu nombreuses.

14.11.2 Exemples d'applications

Dans le domaine de l'anatomopathologie, l'intelligence artificielle a déjà donné des résultats prometteurs pour résoudre différentes problématiques.

Par exemple, l'utilisation de l'intelligence artificielle pour le diagnostic de mésothéliome sur lames histopathologiques a permis d'obtenir 94% d'exactitude (*accuracy*) dans la reconnaissance du variant « transitionnel ». [44]

En s'intéressant plus particulièrement à l'hématopathologie, on trouve également plusieurs études ayant utilisé l'intelligence artificielle pour classer des lames histopathologiques dans le domaine du lymphome.

Par exemple, le travail du Dr Syrykh et son équipe, publié en 2020, a porté sur la distinction entre lymphome folliculaire et hyperplasie folliculaire sur des WSI de ganglions lymphatiques à l'aide de réseaux neuronaux « Bayésiens », qui fournissent une prédiction diagnostique couplée à une estimation du niveau de certitude. Il a montré une exactitude globale de 91% sur l'ensemble des 80 000 tuiles utilisées pour la phase de test. [45]

Le travail du Dr Steinbuss et son équipe, publié en 2021, a quant-à-lui porté sur la classification d'images histopathologiques de ganglions lymphatiques en 3 catégories : non tumoral, lymphome lymphocytaire ganglionnaire et lymphome B diffus à grandes cellules ganglionnaire, et a montré une exactitude de 95% sur les presque 20 000 tuiles utilisées en phase de test. [46]

On peut aussi citer le travail du Dr Achi qui s'est employé à classifier des images histopathologiques en 4 catégories : bénin, DLBCL, Burkitt et LLC [47], et celui du Dr Li qui classait des images histopathologiques en 2 catégories : DLBCL ou non-DLBCL. [48]

Les travaux dans le domaine de l'hématopathologie précédemment cités ont porté le plus souvent sur un seul type de tissu : les ganglions lymphatiques.

De plus, les classifications ont été faites en opposant le lymphome au tissu normal, ou alors en opposant deux types de lymphomes très différents, facilement distinguables morphologiquement par le pathologiste, mais la classification au sein d'un même type de lymphome portant sur une distinction difficilement visible par le pathologiste, a rarement été étudiée.

Par exemple, le travail du Dr Swiderska et son équipe s'est basée sur le repérage par l'intelligence artificielle d'une anomalie non visible en HES par les pathologistes, dans

les DLBCL : il s'agissait de la détection d'un réarrangement MYC dans les DLBCL par intelligence artificielle sur des lames HES scannées, le réarrangement ayant été recherché par FISH d'autre part. La sensibilité obtenue était de 93% (et la spécificité de 52%) et était donc meilleure que la sensibilité de l'IHC. L'IA pourrait donc être utile dans une démarche de pré-screening, en remplacement de l'IHC, avec confirmation par FISH si l'IA donne un résultat positif. [49]

15 Objectif

Au total, les critères morphologiques tels que ceux de la classification de Kiel, bien que subjectifs, permettent parfois au pathologiste de prédire le sous-type ABC ou GCB sur lames HES.

A notre connaissance, la classification ABC/GCB des DLBCL par intelligence artificielle à partir de lames histopathologiques n'a jamais été étudiée.

Or, il serait très utile de pouvoir effectuer cette classification à partir de lames colorées par une coloration HES standard puis scannées, étant donné l'intérêt pronostique et *éventuellement* thérapeutique de cette classification, et étant donné la rapidité d'exécution de cette méthode, qui pourrait potentiellement nous donner un résultat précis en quelques heures (le temps de scanner la lame et de faire tourner l'algorithme) ou en quelques minutes (si la lame est déjà scannée systématiquement), et donc beaucoup plus rapidement que la méthode par RTMLPA, qui prend plusieurs jours. Il faudrait pour cela que cette méthode ait une précision comparable à la RTMLPA, ou tout du moins supérieure à l'algorithme de Hans.

L'objectif principal de ce travail était de développer un algorithme de *deep learning* capable de classer les DLBCL NOS en 2 classes (GCB et ABC) sur leurs critères morphologiques seuls, à partir de lames scannées, avec une bonne exactitude par rapport au gold standard qui est la RTMLPA.

Les objectifs secondaires étaient de comparer la capacité du pathologiste à prédire le sous-type COO sur la seule morphologie, et de comparer sa précision par rapport à l'algorithme de Hans et à la RTMLPA.

Matériel et méthodes

1 Protection des données à caractère personnel

Le projet de recherche a été déclaré à la CNIL via le DPO du CHRU de Lille.

D'autre part, les données recueillies ont été entièrement anonymisées, via un numéro aléatoire qui a été attribué à chaque cas, remplaçant son numéro Diamic (numéro identifiant chaque cas dans notre logiciel de résultats anatomopathologiques).

Les échanges de données anonymisées entre les différents participants du projet ont été faites *via* des plateformes sécurisées telles que CHU Transfert ou alors en mains propres.

2 Sélection des cas

Les patients ont été inclus rétrospectivement sur une période de plus de 10 ans entre le 1^{er} décembre 2010 et le 31 décembre 2020.

Nous avons sélectionné sur cette période l'ensemble des cas de lymphomes B diffus à grandes cellules diagnostiqués au sein de l'institut de pathologie du CHRU de Lille ayant bénéficié d'une classification COO par technique moléculaire RTMLPA, c'est-à-dire l'ensemble des patients ayant bénéficié de cette technique depuis son arrivée au CHRU de Lille jusqu'à la fin de l'année 2020.

La technique RTMLPA pour la classification COO des DLBCL a été mise en place en 2015 au CHRU de Lille pour un autre projet, mais a également été réalisée

rétrospectivement pour des cas de 2010 à 2014, c'est pourquoi nous avons également inclus ces patients prélevés entre 2010 et 2014.

L'identification des patients diagnostiqués « lymphomes B diffus à grandes cellules » a été effectuée à l'aide du logiciel Diamic en utilisant la codification ADICAP (requête avec le code J7G1 correspondant au diagnostic « lymphome B diffus à grandes cellules (SAI) »).

Puis, parmi les patients ainsi identifiés, nous avons gardé uniquement ceux qui avaient un résultat de classification COO par RTMLPA validé disponible sur le logiciel Molis (logiciel de résultats d'analyses biologiques).

Les dossiers anatomopathologiques inclus correspondaient :

- soit à des patients pris en charge au CHRU de Lille : le prélèvement est alors directement adressé à l'institut de pathologie du CHRU de Lille
- soit à des patients pris en charge au Centre Hospitalier d'Arras : le prélèvement est également directement adressé à l'institut de pathologie du CHRU de Lille
- soit dans de rares cas à des patients pris en charge en dehors du CHRU de Lille et du CH d'Arras : le prélèvement est alors adressé à l'institut de pathologie de Lille par un autre laboratoire d'anatomopathologie pour relecture ou avis diagnostique, sous forme de bloc d'inclusion en paraffine et de lames colorées et/ou immunomarquées.

Différents types de prélèvements ont été inclus : des biopsies à l'aiguille, des biopsies chirurgicales, des exérèses d'adénopathie ou de masse extra-ganglionnaire, ou encore des pièces opératoires.

Il pouvait s'agir de prélèvements au diagnostic, au cours du suivi ou lors d'une rechute.

3 Critères d'inclusion

Au total les critères d'inclusion étaient :

- Un diagnostic de lymphome B diffus à grandes cellules
- Un résultat de classification moléculaire COO par RTMPLA disponible.

4 Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient :

- DLBCL issu de la transformation d'un lymphome B à petites cellules (par exemple un lymphome folliculaire ou un lymphome de la zone marginale) ou d'un autre type de lymphome (par exemple transformation d'un lymphome T).
- Lymphome difficile à classer / inclassable
- Lymphoprolifération B associée à l'EBV (du transplanté)
- Absence de prélèvement tumoral fixé par le formol et non congelé (par exemple BPR fixée uniquement en AFA, ou prélèvement tumoral congelé en totalité en extemporané...)
- RTMLPA non interprétable/ échec de la RTMLPA
- Lames non disponibles aux archives de notre service.

5 Données recueillies

Lors du diagnostic, les prélèvements ont été analysés par un médecin pathologiste du CHRU de Lille, qui a rédigé un compte-rendu sur le logiciel Diamic.

Pour chaque dossier, nous avons recueilli grâce aux comptes-rendus archivés sur Diamic :

- le type de prélèvement (biopsie ou exérèse)
- la localisation du prélèvement (ganglionnaire, encéphalique, ou autre)
- le sexe du patient (homme ou femme)
- l'âge du patient au moment du prélèvement.

Nous avons également recueilli pour chaque cas à l'aide du logiciel Molis le résultat de RTMLPA qui se répartissait en 4 catégories : GCB, ABC, PMBL ou inclassable.

6 Relecture histologique

Pour chaque cas (correspondant au prélèvement d'un patient un jour donné), l'ensemble des lames anatomopathologiques ont été ressorties des archives.

Dans la grande majorité des cas, les lames originales ont pu être utilisées.

Dans de rares cas, une ou plusieurs lames d'immunohistochimie ont dû être redemandées (non faites initialement car rechute d'un lymphome connu, ou alors parfois seul le CD10 avait été fait car il était positif et donc BCL6 et MUM1 n'avaient pas été faits).

Dans de très rares cas, certains blocs ont été recoupés pour réaliser de nouvelles lames HES si les lames initiales faisaient défaut.

Une relecture histologique a été réalisée sur l'ensemble des cas inclus dans notre étude.

Cette relecture s'est organisée en une vingtaine de séances, d'une durée d'environ 45 minutes chacune, pendant lesquelles étaient relues au microscope « multitétes », une dizaine de cas à chaque fois.

Elle a été effectuée par un pathologiste expérimenté spécialisé en hématopathologie et une interne, et a porté sur :

- les lames HES tumorales
- les lames d'immunohistochimie correspondant à l'algorithme de Hans (CD10, BCL6, MUM1).

Sur l'HES nous avons étudié la morphologie des cellules tumorales.

Et pour les lames d'immunohistochimie nous avons déterminé le pourcentage de cellules tumorales marquées, respectivement par les anticorps anti-CD10, anti-BCL6 et anti-MUM1, pour chacun des cas.

Grâce aux valeurs des pourcentages pour ces 3 anticorps, nous avons pu déterminer pour chaque cas le statut GC ou non GC selon l'algorithme de Hans (Figure 18). Ce statut pouvait éventuellement être différent du statut déterminé par le pathologiste ayant fait le diagnostic.

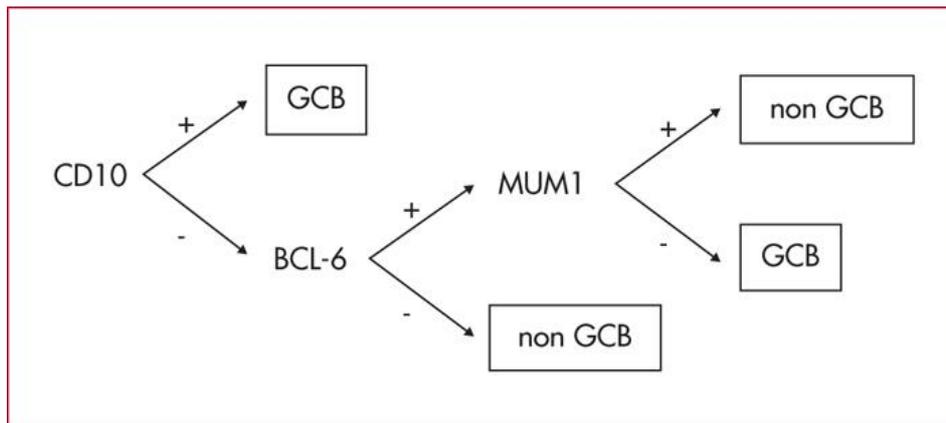


Figure 18. Algorithme de Hans

Le seuil de positivité pour chaque anticorps est de 30% (positif si 30% ou plus des cellules tumorales sont marquées).

Les localisations des marquages sont : membranaire pour CD10, nucléaire pour BCL6 et MUM1.

Les lames d'immunohistochimie ont été obtenues à l'aide d'un automate Ventana Benchmark Ultra.

Les caractéristiques des anticorps utilisés sont présentées dans le tableau suivant :

Table 1. Caractéristiques techniques des anticorps

anticorps	fournisseur	clone	dilution	démasquage	incubation	révélation
CD10	Leica	56C6	1/10	CC1 32'	32'	optiview
BCL6	Ventana Roche	Gl191E/A8	prédilué	CC1 36'	24'	ultraview
MUM1	Dako	MUM1P	1/100	CC1 60'	32'	ultraview

La morphologie des cellules tumorales sur lames HES a été classée en GC ou non GC (= ABC) ou indéterminée selon les critères suivants :

- Critères de la classification de Kiel révisée, tels que décrits dans l'introduction

- Critères de l’OMS
- Critères issus de notre expérience personnelle.

Dans les rares cas où il nous était impossible de trancher morphologiquement entre « GC » et « non GC », nous avons utilisé la troisième catégorie, « inclassable ».

7 Scannage des lames

Pour tous les cas inclus, toutes les lames HES tumorales de prélèvements fixés par le formol et inclus en paraffine ont été sélectionnées pour être scannées, y compris l’ensemble des niveaux de coupe sur chaque bloc tumoral, quand ils ont été réalisés.

Les lames de prélèvements fixés dans l’AFA, les appositions et les lames de coupes congelées d’examens extemporanés n’ont pas été scannées.

Le scanner utilisé était le Ventana iScan HT de Roche couplé au logiciel Ventana iScan HT, avec un grossissement de X200.

8 Données exclues

Pour la suite des analyses, notamment pour analyser les résultats de l’algorithme de Hans et pour les analyses par intelligence artificielle, nous avons exclu les cas classés « PMBL » et « inclassables » en RTMLPA, afin de ne garder que 2 catégories identiques aux catégories de l’algorithme de Hans : ABC et GCB.

9 Annotation des lames

L'ensemble des lames scannées a été annoté à l'aide du logiciel QuPath version 0.3.0 et d'un pad tactile avec stylet (X-PEN Star G430S). Le logiciel QuPath permet d'ouvrir une WSI et de l'annoter de façon libre.

Sur chaque lame, les zones tumorales ont été entourées à l'aide de l'outil d'annotation « Polygon ».

A la suite de cette annotation, un masque a été créé, qui a permis de ne considérer que les tuiles qui se trouvent dans le masque.

Un exemple d'annotation et de masque est présenté ci-dessous (Figure 19).

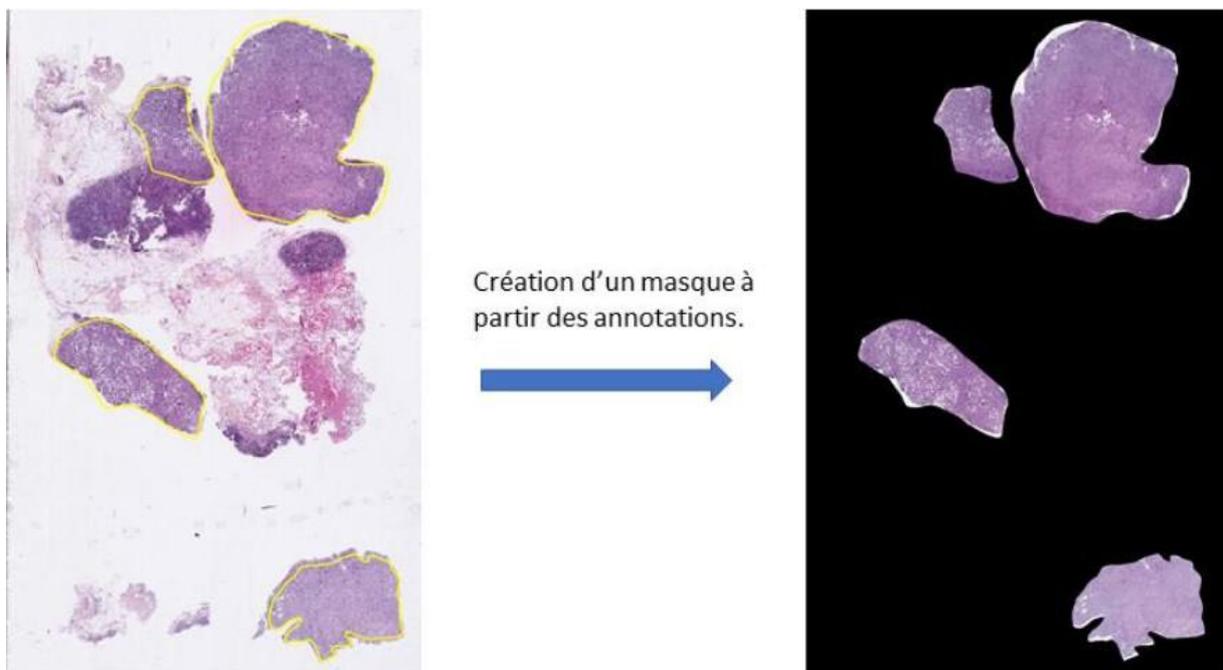


Figure 19. Annotation d'une lame et création d'un masque

10 Analyse par intelligence artificielle

10.1 Matériel et logiciels utilisés

Le logiciel QuPath a été utilisé pour la visualisation et l'annotation des WSI.

Toutes les expérimentations ont été conduites avec le langage de programmation Python et les bibliothèques classiques de machine learning (*tensorflow*, *scikit-learn*, *scipy*).

Les tuiles ont été extraites grâce à la bibliothèque Histolab.

Le serveur de calcul utilisé avait les caractéristiques suivantes :

- OS : Ubuntu 18.04.5 LTS
- CPU : Intel Xeon CPU E5-2698 v4, 2.20 GHz, 80 coeurs, architecture x86_64
- RAM : 503 Go
- GPU: 4 x Tesla V100 SXM2 (32 Go)
- Stockage: 7 To HDD.

10.2 Procédure

10.2.1 Résolution utilisée

Après plusieurs expérimentations, nous avons décidé d'utiliser les trois premiers niveaux de la WSI afin de pouvoir fournir au modèle à la fois une vue détaillée du tissu (niveau 1) et un contexte plus large (niveaux 2 et 3).

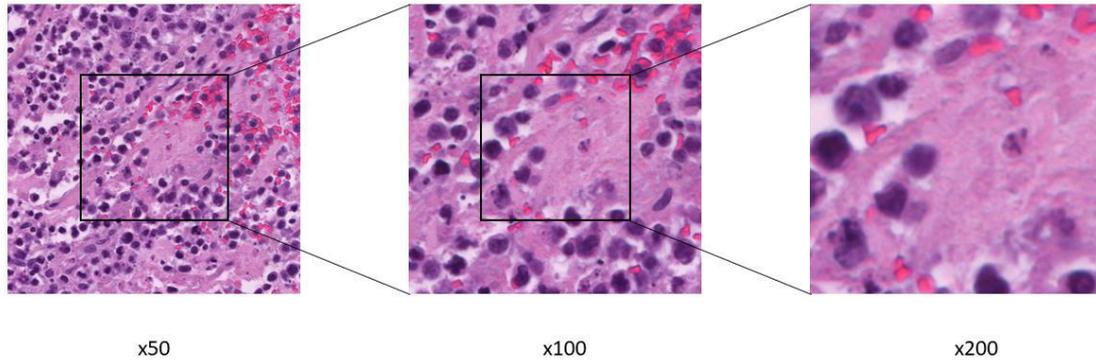


Figure 20. Tuiles de 256x256 pixels centrées sur le même point d'une WSI, provenant des trois premiers niveaux de la pyramide (de gauche à droite : niveaux 3, 2, et 1)

10.2.2 Modèles utilisés et étapes de la procédure

Les modèles utilisés sont de type réseaux de neurones convolutifs.

Plusieurs architectures ont été utilisées dont notamment KimiaNet. [41]

Les différentes étapes ont été les étapes classiques de *machine learning* :

- Phase d'entraînement (*training*)
- Phase de test
- Phase de validation.

Les lames issues d'un même patient ont été utilisées uniquement dans l'une des phases, jamais dans plusieurs phases à la fois.

Résultats

1 Caractéristiques de la population

1.1 Nombre de cas inclus et *flowchart*

Du 1^{er} décembre 2010 au 31 décembre 2020, nous avons recensé dans notre service 237 cas de lymphomes B diffus à grandes cellules ayant bénéficié d'une détermination COO par technique moléculaire RTMLPA.

Parmi ces 237 cas, 33 cas ont dû être exclus :

- 6 échecs de RTMLPA ou RTMLPA non interprétables
- 7 DLBCL issus de la transformation d'un lymphome folliculaire
- 2 DLBCL issus de la transformation d'un lymphome de la zone marginale
- 1 DLBCL issu de la transformation d'un lymphome T
- 2 lymphoproliférations B EBV du sujet transplanté
- 6 cas de lymphomes difficiles à classer ou inclassables par les pathologistes
- 3 cas avec absence de matériel adéquat disponible (un cas où l'ensemble du prélèvement a été congelé, un cas où l'ensemble du prélèvement a été fixé dans l'AFA, un cas de relecture pour lequel nous ne disposions plus ni des blocs ni des lames d'immunohistochimie)
- 6 cas pour lesquels les lames étaient introuvables ou manquantes au sein de notre service d'archivage.

Au total **204 cas** ont été inclus.

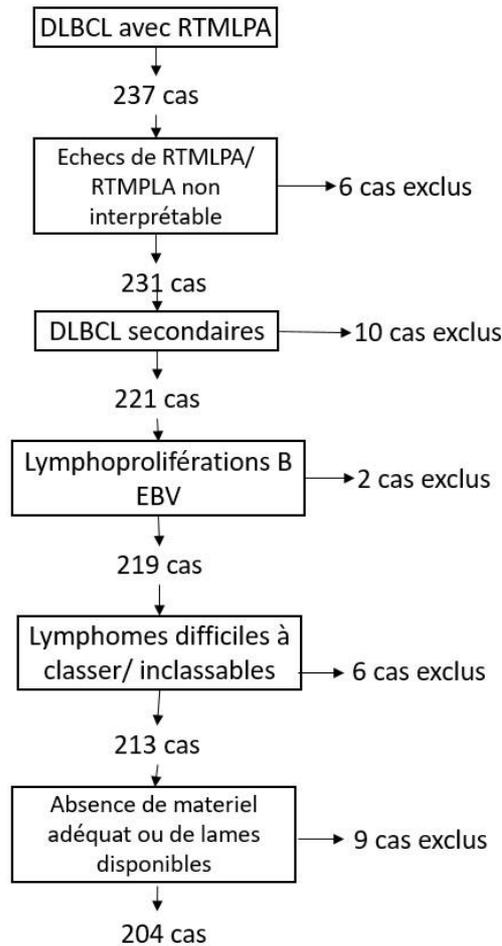


Figure 21. Flowchart (diagramme des flux)

1.2 Description des patients à l'inclusion

La population étudiée comprenait 59% d'hommes (120/204) et 41% de femmes (84/204), soit un sexe ratio homme/femme de 1,43.

L'âge des patients au moment du prélèvement était compris entre 18 et 93 ans.

L'âge moyen au prélèvement était de 62 ans et deux mois, l'âge médian de 63 ans et 6 mois.

Dans le sous-groupe des patients classés PMBL en RTMLPA (16 cas), on trouvait 9 femmes (56%) et 7 hommes (44%), l'âge moyen était de 44 ans et 8 mois et l'âge médian de 40 ans.

1.3 Type et localisation des prélèvements

Concernant le type de prélèvements, la population comportait 146 biopsies (72% des prélèvements) et 58 exérèses (28% des prélèvements).

Parmi les 146 biopsies, 43 étaient des biopsies ganglionnaires, 30 des biopsies encéphaliques et 73 des biopsies de la catégorie « autres ».

Parmi les 58 exérèses, 41 étaient des exérèses ganglionnaires, 2 étaient des exérèses de tumeurs ganglionnaires et 15 étaient des exérèses de la catégorie « autres ».

Dans l'ensemble, en termes de localisation, 41% des prélèvements étaient ganglionnaires (84/204), 16% étaient encéphaliques (32/204), et 43% étaient issus d'autres localisations (88/204).

Table 2. Type et localisation des prélèvements

Type \ Localisation	ganglion	encéphale	autres	total
biopsie	43	30	73	146
exérèse	41	2	15	58
total	84	32	88	204

La catégorie de localisation « autres » correspondait à des localisations très variées :

- Médiastinale (12 prélèvements)

- Tissus mous (11 prélèvements)
- Localisation osseuse (10 prélèvements)
- Cavum, fosses nasales et sinus (9 prélèvements) dont cavum (4 prélèvements), fosses nasales (3 prélèvements) et sinus maxillaire (2 prélèvements)
- Bucco-pharyngée (7 prélèvements) dont cavité buccale (1 prélèvement), langue (2 prélèvements), amygdale (2 prélèvements), pharynx (2 prélèvements)
- Tube digestif (6 prélèvements) dont estomac (2 prélèvements), intestin grêle (2 prélèvements), colon (2 prélèvements)
- Cutanée (5 prélèvements)
- Rétro-péritonéale (5 prélèvements)
- Thyroïde (5 prélèvements)
- Pleuro-pulmonaire (4 prélèvements) dont plèvre (2 prélèvements), liquide pleural (1 prélèvement), poumon (1 prélèvement)
- Parotide (2 prélèvements)
- Pancréas (2 prélèvements)
- Péricarde (1 prélèvement)
- Testicule (1 prélèvement)
- Epiplon (1 prélèvement)
- Hypochondre gauche (1 prélèvement)

- Sein (1 prélèvement)
- Sphénoïde (1 prélèvement)
- Surrénale (1 prélèvement)
- Rate (1 prélèvement)
- Ovaire (1 prélèvement)
- Glande lacrymale (1 prélèvement).

La catégorie « encéphale » comprenait majoritairement des localisations cérébrales (27 prélèvements), ainsi que de rares localisations cérébelleuses (2 prélèvements), de la fosse postérieure (1 prélèvement), du mésencéphale (1 prélèvement) et de l'angle ponto-cérébelleux (1 prélèvement).

1.4 Résultats de RTMLPA

1.4.1 Résultats globaux

Parmi les 204 patients :

- 94/204 patients étaient classés ABC en RTMLPA (46%).
- 66/204 étaient GCB (32%).
- 16/204 étaient PMBL (8%).
- 28/204 étaient inclassables (14%).

1.4.2 Résultats au sein des prélèvements encéphaliques

Parmi les 32 prélèvements encéphaliques :

- 23/32 étaient classés ABC en RTMPLA (72%)

- 7/32 étaient classés GCB (22%)
- 1/32 était classé PMBL (3%)
- 1/32 était inclassable (3%).

1.5 Résultats pour le nombre de lames scannées

Au total 635 lames ont été scannées, soit en moyenne 3,1 lames scannées par patient.

Chez les 94 patients classés ABC en RTMPLA, 303 lames ont été scannées.

Chez les 66 patients classés GCB en RTMPLA, 184 lames ont été scannées.

Au total pour les patients classés ABC ou GCB en RTMLPA, 487 lames ont été scannées, dont 62% de lames ABC (303/487) et 38% de lames GCB (184/487).

A noter que d'une lame scannée à l'autre, la quantité d'information obtenue peut être très différente : biopsies de petite taille *versus* exérèse ganglionnaire occupant presque toute la lame, infiltration tumorale minime *versus* lame entièrement tumorale.

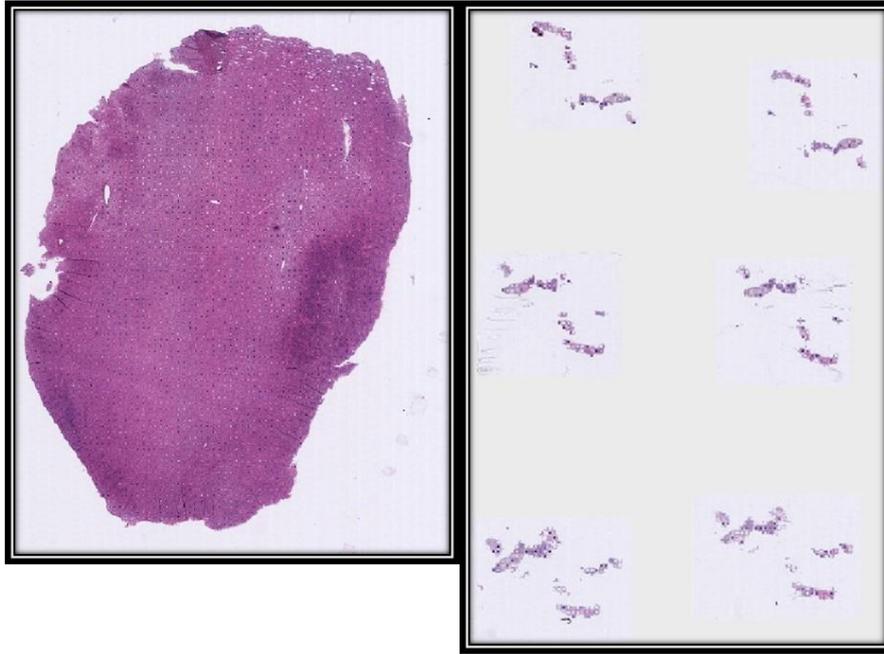


Figure 22. Variabilité dans la quantité de matériel contenue par lame. Exérèse ganglionnaire à gauche et biopsie ganglionnaire à droite, à la même échelle.

2 Résultats de la relecture histologique

2.1 Aspect morphologique en HES

2.1.1 Relecture par le pathologiste sénior :

- 91/204 (45%) des cas ont été classés « GC » par le pathologiste sénior
- 111/204 (54%) des cas ont été classés « non GC » par le pathologiste sénior
- 2/204 (1%) des cas ont été classés « inclassable » par le pathologiste sénior.

2.1.2 Relecture par le pathologiste junior :

- 85/204 (42%) des cas ont été classés « GC » par le pathologiste junior
- 117/204 (57%) des cas ont été classés « non GC » par le pathologiste junior
- 2/204 (1%) des cas ont été classés « inclassable » par le pathologiste junior.

2.2 Immunohistochimie et algorithme de Hans

On rappelle que l'algorithme de Hans classe en deux catégories seulement (pas de classe « PMBL » ni « inclassable »).

2.2.1 Résultats globaux :

- 106/204 cas sont classés ABC selon l'algorithme de Hans déterminé par immunohistochimie (52%)
- 98/204 cas sont classés GCB selon l'algorithme de Hans déterminé par immunohistochimie (48%).

2.2.2 Résultats du Hans chez les patients ABC et GCB

Après exclusion des cas classés « PMBL » et « inclassable » en RTMLPA, il reste **160 cas** (uniquement des cas classés « ABC » ou « GCB » en RTMLPA).

Parmi ces 160 cas :

- 78/160 sont classés « ABC » selon Hans (49%)
- 82/160 sont classés « GCB » selon Hans (51%).

2.3 Taux de concordance Hans vs RTMLPA parmi ces 160 patients

Les cas concordants sont définis de la façon suivante : résultat de Hans identique au résultat de RTMLPA. Les cas discordants sont à l'inverse définis par un résultat de Hans différent du résultat de RTMPLA.

Chez les 160 patients classés soit ABC soit GCB en RTMPLA, les résultats étaient les suivants :

- cas concordants : 134/160 (**84%**)
- cas discordants : 26/160 (16%).

2.4 Taux de concordance morphologie *versus* RTMLPA parmi les mêmes 160 patients :

De la même façon que précédemment, les cas concordants sont définis par un résultat pour l'analyse morphologique identique à celui de la RTMLPA, et les cas discordants par un résultat différent.

2.4.1 Morphologie pathologiste sénior *versus* RTMLPA :

- cas concordants : 107/160 (**67%**)
- cas discordants : 53/160 (33%).

2.4.2 Morphologie pathologiste junior *versus* RTMLPA :

- cas concordants : 99/160 (**62%**)
- cas discordants : 61/160 (38%).

3 Résultats de l'analyse des images par intelligence artificielle

Seuls les patients classés ABC ou GCB par la RTMPLA (gold standard) ont été utilisés pour l'analyse par intelligence artificielle. Au total 474 lames ont été utilisées pour les analyses. Ces lames ont été divisées en tuiles (« patches » de 256X256 pixels).

Toutes les tuiles issues d'une lame « ABC » étaient automatiquement labellisées ABC, et toutes les tuiles issues d'une lame « GCB » étaient automatiquement labellisées GCB.

Les aspects des tuiles obtenues étaient très variables, notamment en termes de couleur de la coloration HES, plus ou moins pâle, et tirant plus vers le rose ou vers le violet selon les cas (Figure 23).

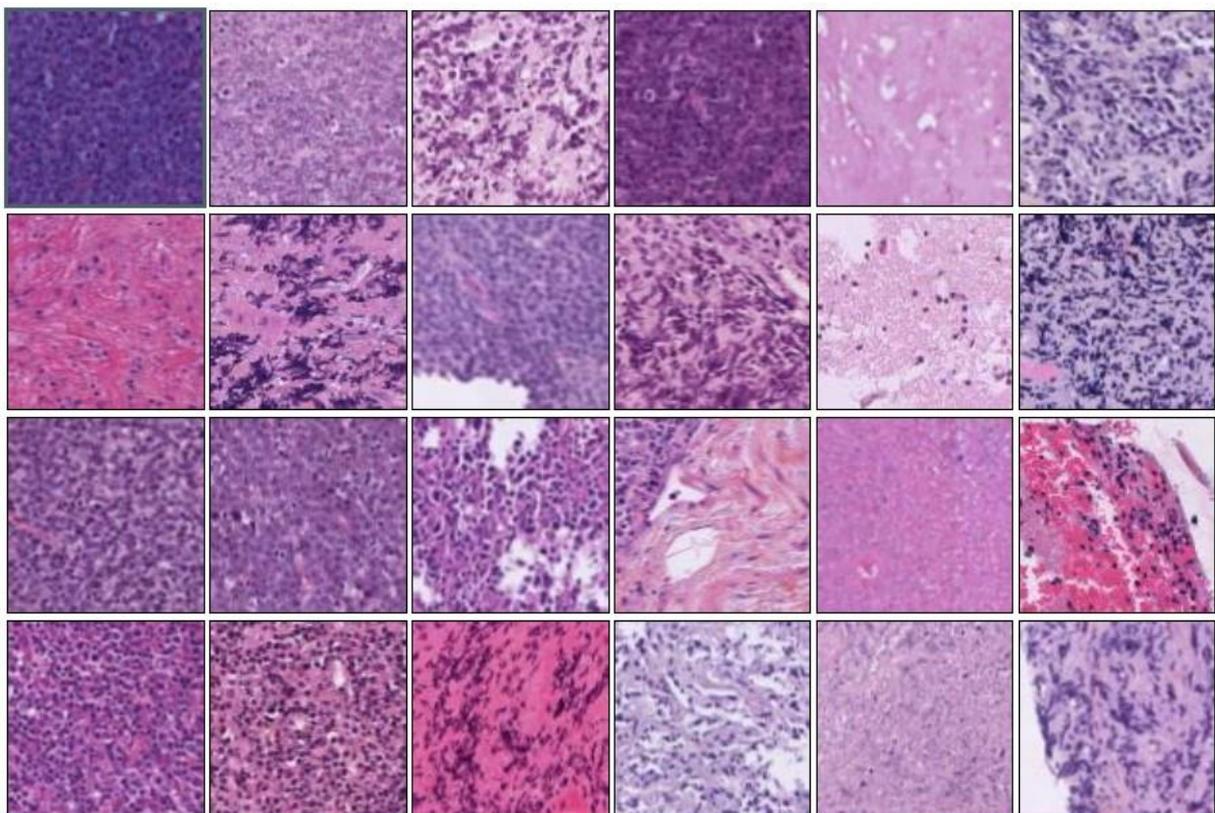


Figure 23. Diversité des tuiles obtenues

Nous avons divisé les lames aléatoirement en 3 parties comme suit, en prenant soin de mettre toutes les lames provenant d'un même cas dans la même phase :

- 295 lames pour la phase d'entraînement
- 95 lames pour la phase de validation

- 94 lames pour la phase de test.

Nous avons testé plusieurs architectures : ResNet, LeNet, ainsi que DenseNet.

3.1 Entraînement et validation

Afin de déterminer les paramètres optimaux d'entraînement pour notre modèle, nous avons élaboré un plan d'expérience faisant varier 9 hyperparamètres (*learning rate*, *learning rate decay*, *optimiseur*, *initialisation des paramètres*, *taille du batch*, *niveaux de la pyramide des WSI utilisés*, *fine-tuning*, *consistency regularization*, *pondération des classes*).

Le ratio d'images dans le dataset était « naturellement » déséquilibré (62% de lames labellisées ABC contre 38% de lames labellisées GCB).

50 cycles d'entraînement et 50 cycles de validation ont été effectués.

3.2 Phase de test

3.2.1 ResNet et LeNet

Ces deux architectures obtiennent toutes les deux une exactitude (*accuracy*) maximale de **38%** à l'échelle des lames, c'est-à-dire que 38% des lames étaient classées correctement en GCB ou en ABC comparativement à leur classement par RTMLPA.

A noter que LeNet était pré-entraîné sur des images histopathologiques.

Pour obtenir le résultat à l'échelle d'une lame, nous avons testé deux méthodes :

- Soit faire la moyenne des probabilités de chaque tuile d'une lame, et utiliser cette probabilité moyenne pour déterminer la classe de la lame

- Soit prendre la classe majoritaire des tuiles de la lame pour déterminer la classe de la lame.

Ces deux méthodes ont donné le même résultat final.

3.2.2 KimiaNet

Nous avons utilisé le modèle KimiaNet, qui utilise l'architecture DenseNet et qui a été pré-entraîné sur des images histopathologiques.

Après avoir sélectionné un modèle sur la base de la phase de validation, nous avons obtenu le résultat suivant sur les 94 lames de la phase de test : **64%** d'exactitude (*accuracy*) à l'échelle d'une lame.

3.2.3 KimiaNet avec annotation des zones tumorales

Nous avons également entraîné le modèle avec les mêmes lames annotées. Un masque a ainsi été appliqué suite au « contouring » des zones tumorales sur QuPath, pour augmenter la proportion de tuiles tumorales.

L'exactitude (*accuracy*) était alors de **79%** à l'échelle des lames, sur un jeu de données de test contenant plus de 600000 tuiles.

3.2.4 Modification du ratio ABC/GCB

Nous avons conduit d'autres tests en modifiant le ratio ABC/GCB, pour essayer de l'équilibrer, voire de le renverser.

Le modèle KimiaNet avec un ratio ABC/GCB de 50/50 donne une performance de **52%**.

Et avec un ratio ABC/GCB de 35/65 on obtient une exactitude (*accuracy*) **de 61%**.

Discussion

1 Principaux résultats

Les principaux résultats obtenus sont ceux issus de la relecture histologique :

- 62% de concordance sur la morphologie seule entre le pathologiste junior et la RTMLPA
- 67% de concordance sur la morphologie seule entre le pathologiste sénior et la RTMLPA
- 84% de concordance entre le résultat de l'algorithme de Hans et la RTMLPA ;

Ainsi que ceux issus de l'analyse par intelligence artificielle : le meilleur résultat obtenu était de 79% d'exactitude (*accuracy*) par rapport au gold standard (RTMLPA).

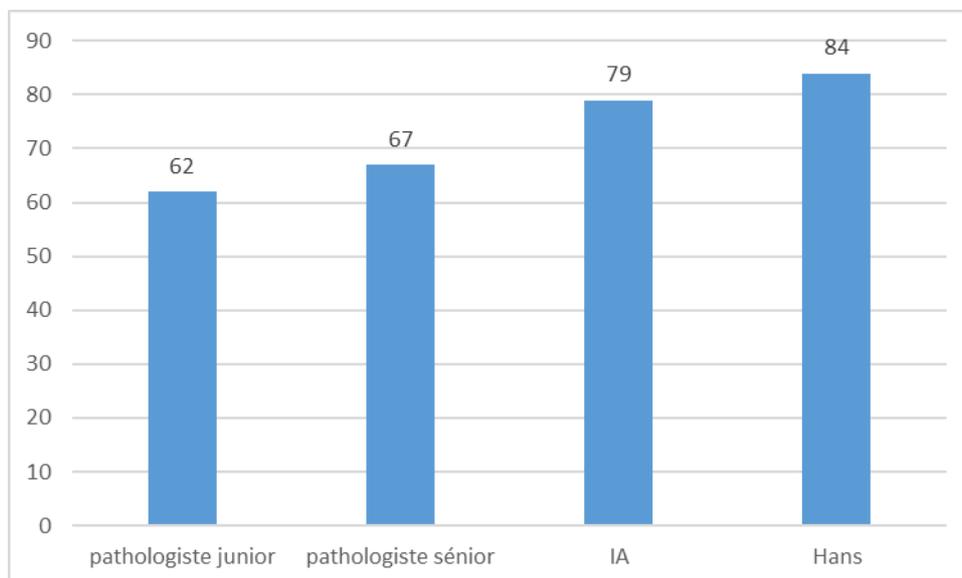


Figure 24. Principaux résultats

2 Discussion des résultats

2.1 Population

Avant de discuter nos résultats, il convient de s'assurer de la représentativité de notre échantillon, et pour ce faire nous allons comparer les caractéristiques de notre population à celles habituellement retrouvées dans la littérature.

2.1.1 Age et sexe

Le DLBCL touche 59% d'hommes dans notre population totale, contre 55% d'hommes dans la littérature. [5]

L'âge médian dans notre population est de 63 ans et 6 mois, contre 64 ans dans la littérature. [5]

On retrouve ainsi la prédominance masculine, et un âge médian quasiment identique.

Ainsi, les données épidémiologiques de notre population en termes d'âge et de sexe sont très semblables aux données de la littérature.

2.1.2 Population étudiée : les DLBCL

Dans notre population classée DLBCL, il faut noter que tous les cas n'ont pas bénéficié d'une étude complète associant IHC et FISH. La plupart n'ont pas assez de critères vérifiés pour être classés en DLBCL NOS selon l'OMS 2016, car il n'y a pas eu de dépistage des « *double hits* » et « *triple hits* », qui les reclasseraient en lymphomes B de haut grade.

Lors de la relecture, nous n'avons pas fait le choix de compléter l'étude, par manque de moyens et pour ne pas influencer *a posteriori* la thérapeutique.

2.1.3 Sous-catégories en RTMLPA

Concernant la répartition des classes en RTMLPA, parmi les 204 patients étudiés, il y avait :

- 94 patients ABC (46%)
- 66 patients GCB (32%)
- 28 patients inclassables (14%)
- 16 patients PMBL (8%).

Les résultats habituellement retrouvés sont de 48% de GCB, 36% d'ABC et 16% d'inclassables. [50]

Ainsi, le taux de patients inclassables semble concordant avec les données de la littérature, mais le rapport GCB/ABC est inversé dans notre population.

Cela peut s'expliquer simplement par le fait que nous avons un biais de recrutement en raison d'une activité neurochirurgicale très importante au CHRU de Lille, qui amène de nombreux prélèvements cérébraux.

Or les DLBCL primitifs cérébraux sont plus souvent de sous-type ABC. [51]

Cela se confirme dans notre population avec une proportion de ABC de 74% (23 prélèvements sur 31) parmi les prélèvements encéphaliques, après exclusion d'un patient classé PMBL en RTMLPA.

2.1.4 Problématique du PMBL

Le PMBL est une entité à part parmi les DLBCL, avec une lymphomagénèse différente des autres DLBCL, qui se fait à partir des cellules B thymiques.

Par conséquent, nous avons choisi de ne pas intégrer les PMBL aux données utilisées pour l'analyse par IA.

De même, nous avons exclu les cas classés PMBL par la RTMLPA pour la comparaison Hans vs RTMLPA, d'autant plus que l'algorithme de Hans n'a pas de catégorie PMBL.

2.2 Points forts de l'étude

Les points forts de notre étude sont notamment :

- le nombre important de cas inclus : plus de 200 cas inclus en un peu plus de 10 ans (dont 160 inclus dans l'analyse par IA)
- le nombre de lames scannées important : plus de 600 lames scannées (dont 474 incluses dans l'analyse par IA)
- la grande diversité de tissus inclus, qui est une force pour entraîner correctement une IA.

2.3 Limites de la méthode

Parmi les limites de notre étude, on peut citer :

- Le caractère unicentrique de l'étude, qui est cependant contrebalancé par la grande diversité des aspects de la coloration HES, y compris sur une même journée avec un même automate, qui crée artificiellement une grande variété dans les lames utilisées.

- La proportion relativement importante d'« inclassables » en RTMLPA (14%), qui rend délicate la comparaison entre morphologie et RTMLPA, étant donné que morphologiquement on s'astreint à trancher entre GCB et ABC et on ne répond qu'exceptionnellement « inclassable ».

2.4 Morphologie en HES

2.4.1 Résultat global

Les résultats de la relecture des lames HES au microscope par les pathologistes sénior et junior ont mis en évidence des taux de concordance par rapport à la RTMLPA de respectivement 67% et 62%.

On remarque un écart entre les deux pathologistes, en faveur du pathologiste sénior, ce qui paraît logique puisque c'est le plus expérimenté des deux.

Ces taux sont largement supérieurs à 50% ne peuvent pas être le fruit du hasard, et indiquent qu'il existe des caractéristiques morphologiques permettant de distinguer les DLBCL ABC des GCB, bien que difficilement visibles par l'œil humain.

2.4.2 Phase d'apprentissage

En ce qui concerne la morphologie sur l'HES déterminée par le pathologiste junior, on peut noter que celui-ci s'est formé au fur et à mesure de la relecture des cas, et n'était donc pas très performant sur les 10 à 20 premiers cas qu'il a classés.

Nous avons également remarqué à chaque séance une petite phase d'adaptation, notamment lorsque la séance précédente datait d'il y a plusieurs semaines, qui nous donnait l'impression d'une courte phase d'entraînement pour l'œil à chaque début de séance.

2.4.3 Cas particuliers

Nous avons identifié un aspect morphologique particulier dans les lymphomes de haut grade (double ou triple hit) : la morphologie est différente par rapport aux lymphomes qui ne sont pas de haut grade, un lymphome de haut grade « GC » peut ressembler morphologiquement à du « non GC » et il est par conséquent très difficile pour les pathologistes de classer ces lymphomes sur le plan morphologique.

Or nous avons décidé de ne pas exclure les lymphomes de haut grade, qui sont décrits comme étant souvent de type GC, car nous n'avons pas testé toute notre série pour les dépister.

2.5 Résultats du Hans

Le taux de concordance Hans vs RTMLPA parmi les 160 patients classés ABC ou GCB en RTMLPA est de 84%, ce qui semble être un excellent résultat, justifiant l'utilisation de cet algorithme pour la décision thérapeutique.

En comparaison, la concordance de l'algorithme de Hans par rapport aux analyses transcriptomiques est de 86%. [52]

2.6 Analyse par intelligence artificielle

2.6.1 Choix des données utilisées

Nous avons choisi dans un premier temps de n'utiliser que les cas classés ABC ou GCB en RTMLPA pour l'intelligence artificielle.

Nous avons décidé d'exclure les PMBL pour ne pas biaiser la construction de l'outil IA, car, comme expliqué précédemment, le PMBL est une entité à part parmi les DLBCL.

Nous avons également exclu de l'analyse IA les patients inclassables en RTMPLA, pour ne garder que 2 catégories dans un premier temps.

2.6.2 Résultats

Le meilleur résultat a été obtenu avec les paramètres suivants :

- Architecture KimiaNet
- Ratio ABC/GCB de 62/38
- Annotation des zones tumorales.

Ce résultat était de 79% d'exactitude (*accuracy*) à l'échelle d'une lame pour la phase de test.

Ce résultat se situe bien au-dessus de l'analyse morphologique par le pathologiste (67% de concordance) et se rapproche des performances de l'algorithme de Hans (84%).

Le simple fait que l'analyse par intelligence artificielle obtienne un résultat supérieur à l'analyse par l'œil humain, est un résultat très intéressant.

2.6.3 Environnement péri-tumoral

Nous avons identifié de nombreux « perturbateurs » pouvant potentiellement interférer avec l'interprétation par l'IA :

- la présence de travées fibreuses entremêlées avec la tumeur
- la présence de nombreux vaisseaux de taille moyenne à grosse au sein de la tumeur
- une infiltration importante de la tumeur par des petits lymphocytes normaux
- un aspect écrasé des cellules tumorales

- une tumeur infiltrant du tissu adipeux, avec donc de nombreux adipocytes mêlés aux cellules tumorales
- une quantité importante de sang entremêlé avec la tumeur (souvent le cas pour les prélèvements cérébraux, par exemple).

Certains de ces facteurs ont été identifiés sur les *heatmaps* (comme par exemple les travées fibreuses), d'autres sont des hypothèses tirées de ce qui nous perturbe nous pathologistes dans l'interprétation (comme par exemple les cellules « écrasées »).

Ce que nous appelons les *heatmaps* sont des images qui montrent la superposition de l'image histopathologique et du résultat de l'IA pour chaque tuile. Pour une tuile répondue « ABC » par l'IA nous avons superposé une couleur rouge, et pour une tuile répondue « GCB » une couleur bleue.

Ci-dessous nous présentons une *heatmap* d'une lame labellisée « ABC » (cas classé ABC en RTMLPA). Les zones rouges sont les tuiles classées ABC par l'IA, donc ici classées correctement, et les zones bleues sont les tuiles classées GCB.

La zone entourée en noir est une grande travée fibreuse au sein de la tumeur, elle a été incorrectement classée « GCB » par l'IA, alors que le reste de la tumeur est correctement classée « ABC ». (Figure 25)

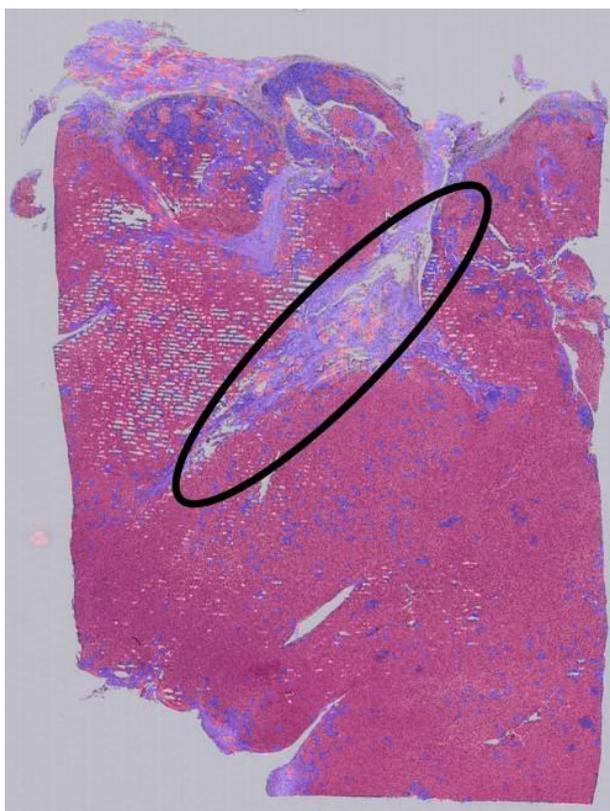


Figure 25. Heatmap d'une lame labellisée ABC. Tuiles ABC en rouge et tuiles GCB en bleu. Travée fibreuse entourée en noir.

2.6.4 Choix d'annoter les zones tumorales

Après avoir fait les premières analyses sans annoter les lames, le meilleur résultat obtenu a été de 64% d'exactitude (*accuracy*), c'est-à-dire un résultat du même ordre que celui obtenu par les pathologistes.

Nous avons donc analysé une dizaine de *heatmaps* pour chacune des classes (une dizaine de lames labellisées ABC et une dizaine de lames labellisées GCB), et nous nous sommes ainsi aperçus que le modèle, comme on pouvait s'y attendre, se trompait souvent de classe dans les zones non tumorales (mais également parfois dans des zones tumorales, sans que l'on comprenne pourquoi).

L'image suivante montre à nouveau une *heatmap* d'une lame labellisée « ABC ». On voit que la zone entièrement tumorale (moitié inférieure de l'image) est plutôt

correctement classée par l'IA, avec une très grande majorité de tuiles ABC (rouges). Par contre, la moitié supérieure de l'image, non tumorale, correspondant à une muqueuse digestive normale, est classée avec un mélange de tuiles ABC (rouges) et de tuiles GCB (bleues). (Figure 26)

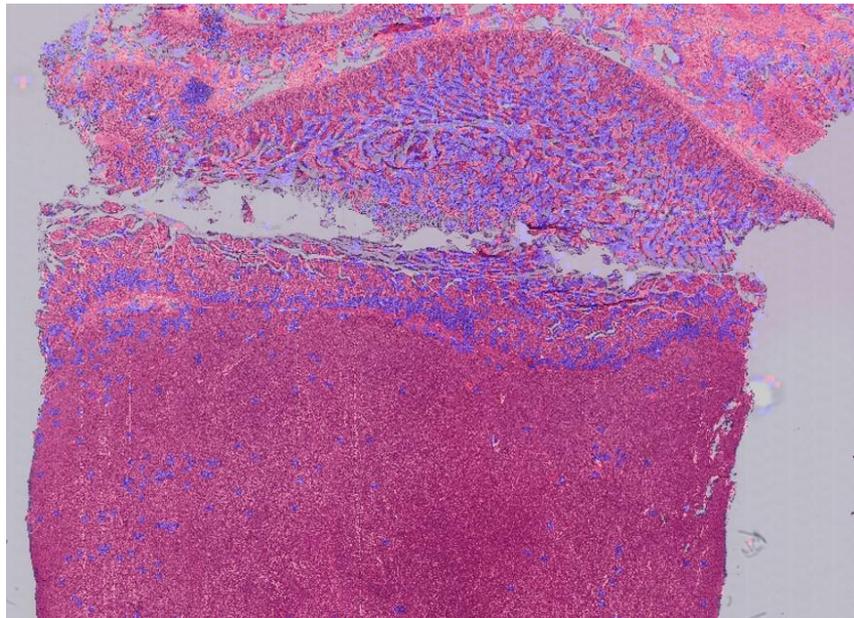


Figure 26. Heatmap d'une lame labellisée ABC. Zone tumorale en bas, muqueuse digestive normale en haut. Tuiles ABC en rouges, tuiles GCB en bleu.

Suite à ces observations, nous avons décidé d'annoter les zones tumorales, afin d'enrichir drastiquement le *dataset* en tuiles tumorales.

2.6.5 Résultats après annotation

Suite à l'annotation des lames, c'est-à-dire le « contourage » manuel des zones tumorales sur chaque lame, nous avons obtenu un résultat maximal de 79% d'exactitude (*accuracy*).

L'annotation a ainsi permis une nette amélioration des résultats, passant de 64 à 79% d'exactitude, mais on peut lui reprocher d'avoir été longue et fastidieuse, et d'être difficilement applicable en routine.

2.6.6 Visualisation 2D

Nous avons ensuite réalisé une visualisation 2D des résultats du modèle, afin de mieux appréhender le modèle et ses résultats.

Cette visualisation 2D montre la représentation que le modèle a des tuiles, elle a été construite à partir de 5 tuiles aléatoirement sélectionnées pour chacune des 94 lames de test, chaque point rouge correspondant à une tuile labellisée « ABC » et chaque point bleu correspondant à une tuile labellisée « GCB ».Figure 27. Visualisation 2D: vrais positifs ABC en rouge et vrais positifs GCB en bleu(Figure 27)

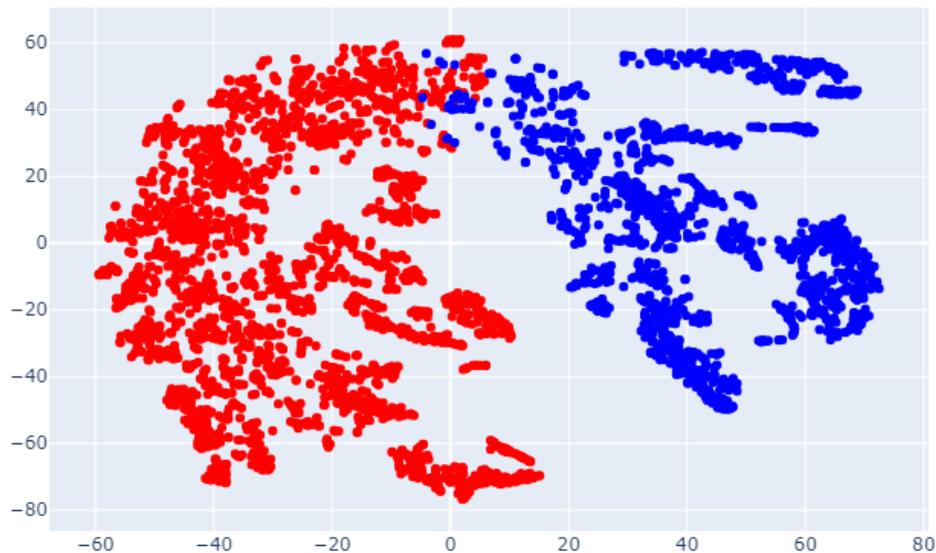


Figure 27. Visualisation 2D: vrais positifs ABC en rouge et vrais positifs GCB en bleu

On remarque que le modèle ne parvient pas à séparer entièrement les ABC et les GCB, il persiste une zone où les deux classes se chevauchent.

Les deux figures suivantes montrent les tuiles incorrectement classées « GCB » (Figure 28) et les tuiles incorrectement classées « ABC » (Figure 29).

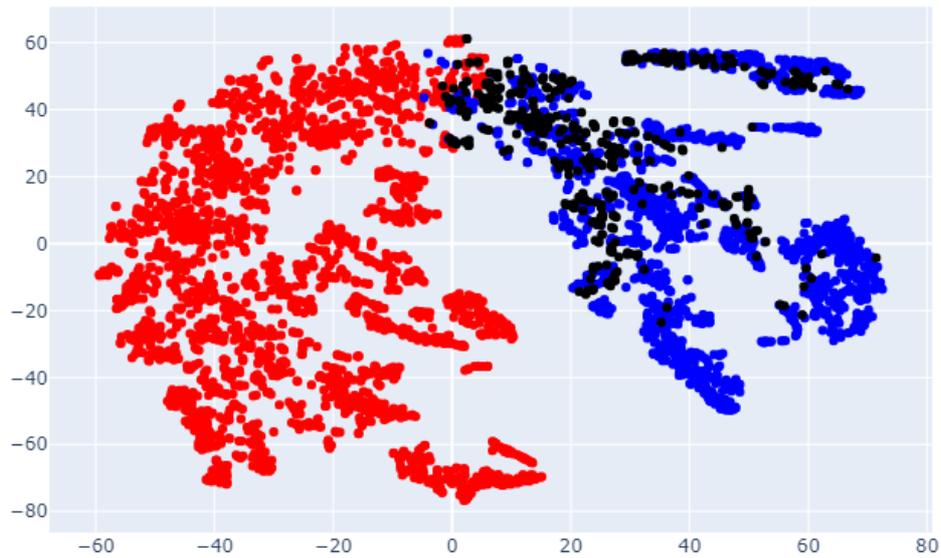


Figure 28. Visualisation 2D: faux positifs GCB en noir

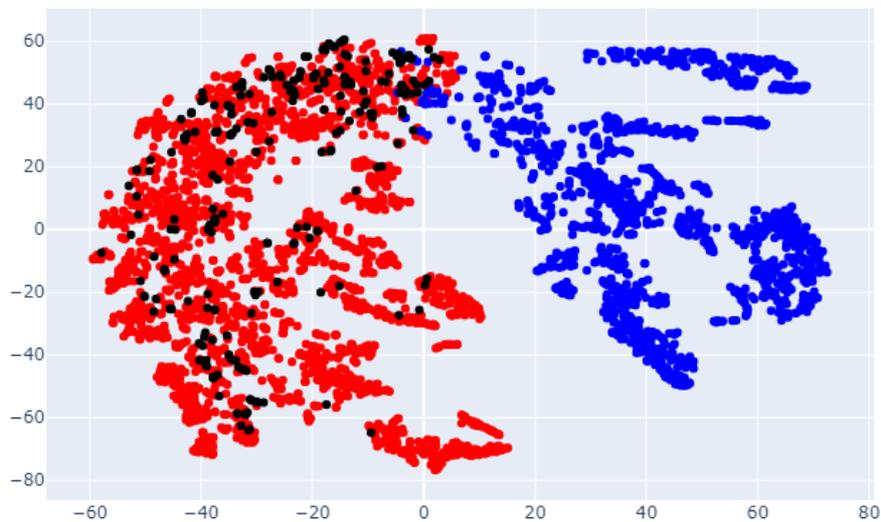


Figure 29. Visualisation 2D: faux positifs ABC en noir

Il pourrait être intéressant de se pencher plus précisément sur ces cas « faux positifs » et « faux négatifs », tout d'abord regarder avec l'œil humain les tuiles concernées pour voir si nous trouvons une explication, et aussi regarder aussi avec quelle probabilité ces tuiles ont été classées dans la classe en question. Si cette probabilité est proche de 0,5 et loin de 1 ça nous permettrait de les repérer facilement, pour éventuellement émettre une réserve sur ces résultats-là, ou alors pour essayer de trouver un meilleur moyen pour les classer.

3 Perspectives et intérêt clinique

3.1 Morphologie sur HES

La classification morphologique sur HES par les pathologistes, avec son taux maximal de concordance par rapport à la RTMLPA de 67%, ne présente pas d'intérêt en tant que tel pour le diagnostic. Nous l'avons réalisée essentiellement à but didactique, et pour évaluer la faisabilité de notre projet d'intelligence artificielle.

3.2 Limites et améliorations du Hans

Les résultats de l'algorithme de Hans dans notre étude mériteraient d'être étudiés plus en détails, notamment pour les cas discordants, et particulièrement pour ceux classés GCB par l'algorithme de Hans et ABC en RTMLPA, avec un intérêt particulier pour certaines tumeurs classées ABC en RTMLPA mais qui avaient un marquage aberrant par le CD10.

Ces hypothèses méritent plus d'investigations, mais pour le moment nous pouvons quand-même conseiller de faire systématiquement les 3 marqueurs pour l'algorithme de Hans, et de ne pas s'arrêter au CD10 même si celui-ci est positif.

3.3 Perspectives pour notre modèle d'IA

Les résultats sont très encourageants et les perspectives nombreuses.

3.3.1 Classe « inclassable »

Deux méthodes seraient possibles :

- On pourrait tout simplement faire passer les patients classés « inclassables » en RTMLPA dans notre IA déjà entraînée, et voir comment ils seraient classés, puis comparer cette classe à la survie du patient
- On pourrait aussi ré-entraîner le modèle avec cette fois 3 catégories : « ABC », « GCB » et « inclassable ».

3.3.2 Classe PMBL

On pourrait également ré-entraîner le modèle avec une 3^{ème} classe « PMBL » et entraîner le modèle avec 3 classes (« ABC », « GCB », et « PMBL ») ou même à terme l'entraîner avec 4 classes, « GCB », « ABC », « PMBL » et « inclassable » pour s'aligner sur les 4 catégories rendues par la RTMLPA.

Ces catégories pourraient d'autant plus facilement être rajoutées que toutes les lames des classes « inclassable » et « PMBL » ont déjà été scannées, et ne demandent qu'à être exploitées.

3.3.3 Lames d'immunohistochimie

Les lames scannées des immunohistochimies de l'algorithme de Hans pourraient être couplées à l'HES et données au modèle pour qu'il s'entraîne.

Cette option demanderait que l'on scanne beaucoup plus de lames et ne serait pas forcément la plus pratique, mais on peut imaginer que ces données se serviraient qu'à l'entraînement, et que le modèle serait par la suite efficace avec uniquement les lames HES.

Nous n'avons initialement pas retenu cette option, de peur qu'elle ne biaise l'entraînement de l'algorithme.

3.3.4 Annotation automatique des zones tumorales

Automatiser l'étape d'annotation (« contourage ») des zones tumorales grâce par exemple à un autre modèle d'IA entraîné spécifiquement pour reconnaître les zones de DLBCL, et que l'on pourrait coupler à notre modèle, serait un grand gain de temps.

3.3.5 Workflow

Cette idée rejoint la précédente : il pourrait être intéressant de mettre en place un *workflow*, c'est-à-dire plusieurs architectures à la suite pour améliorer les résultats.

3.3.6 Données de survie

Il serait extrêmement pertinent de refaire le même type d'étude en s'affranchissant des résultats de RTMPLA (qui reste une technique avec ses propres biais et inconvénients), et en utilisant à la place les données de survie des patients, qui nous donneraient un résultat beaucoup plus direct en termes de pronostic.

Il faudrait pour cela un temps de suivi plus long, ce qui était difficilement réalisable avec nos cas ayant été inclus jusqu'au 31 décembre 2020.

3.3.7 Augmentation des données

Enfin, il pourrait toujours être intéressant de travailler sur un nombre de patients plus élevé, pour avoir des données plus fournies, et également de travailler sur des données provenant de plusieurs centres, afin d'avoir des résultats généralisables.

3.4 Perspectives générales

Une méthode comme celle que nous avons mise au point pourrait permettre, si l'on parvient à l'améliorer et à atteindre une exactitude proche de 100%, un gain de temps pour les patients et pour les pathologistes. En effet, la durée d'analyse d'une lame par

l'IA serait de quelques minutes, ce à quoi il faudra rajouter le temps de scannage de la lame.

Le passage progressif à la pathologie numérique en France, c'est-à-dire la numérisation systématique des lames histopathologiques par les laboratoires de diagnostic, offre des perspectives très prometteuses.

Conclusion

Au total, la classification COO des DLBCL par intelligence artificielle sur lames histopathologiques est possible avec un taux d'exactitude très encourageant de 79%, qui se situe pour le moment au-dessus de l'analyse morphologique par l'œil humain, mais n'atteint pas encore les performances de l'algorithme de Hans.

Des ajustements complémentaires sont nécessaires afin d'améliorer les performances de notre modèle et de pouvoir espérer dans le futur utiliser cette technique au quotidien dans nos laboratoires.

Liste des tables

Table 1. Caractéristiques techniques des anticorps	52
Table 2. Type et localisation des prélèvements	59

Liste des figures

Figure 1. Lymphomes B à grandes cellules, classification OMS 2016	11
Figure 2. Index IPI et NCCN-IPI	19
Figure 3. Classification d'Ann Arbor.....	19
Figure 4. Echelle de performance de l'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)	19
Figure 5. Algorithme de Hans [32]	26
Figure 6. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type monomorphe, d'après [38].....	29
Figure 7. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type polymorphe, d'après [38].....	29
Figure 8. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type "multilobé", d'après [38].....	30
Figure 9. Exemple de morphologie centroblastique de sous-type centrocytoïde, d'après [38].....	30
Figure 10. Exemple de morphologie immunoblastique sans différenciation plasmocytaire, d'après [38].....	31
Figure 11. Exemple de morphologie immunoblastique avec différenciation plasmocytaire, d'après [38].....	32
Figure 12. Exemple de morphologie immunoblastique avec nombreux lymphocytes, d'après [38].....	32
Figure 13. Data Science [39]	33
Figure 14. Réseau de neurones artificiels [40]	36
Figure 15. Early Stopping Point.....	39
Figure 16. Whole Slide Image	41
Figure 17. Extraction des tuiles à partir d'une WSI	42
Figure 18. Algorithme de Hans	52
Figure 19. Annotation d'une lame et création d'un masque.....	54
Figure 20. Tuiles de 256x256 pixels centrées sur le même point d'une WSI, provenant des trois premiers niveaux de la pyramide (de gauche à droite : niveaux 3, 2, et 1)	56
Figure 21. Flowchart (diagramme des flux)	58
Figure 22. Variabilité dans la quantité de matériel contenue par lame. Exérèse ganglionnaire à gauche et biopsie ganglionnaire à droite, à la même échelle.	63
Figure 23. Diversité des tuiles obtenues.....	66

Figure 24. Principaux résultats	69
Figure 25. Heatmap d'une lame labellisée ABC. Tuiles ABC en rouge et tuiles GCB en bleu. Travée fibreuse entourée en noir.	77
Figure 26. Heatmap d'une lame labellisée ABC. Zone tumorale en bas, muqueuse digestive normale en haut. Tuiles ABC en rouges, tuiles GCB en bleu. ..	78
Figure 27. Visualisation 2D: vrais positifs ABC en rouge et vrais positifs GCB en bleu	79
Figure 28. Visualisation 2D: faux positifs GCB en noir	80
Figure 29. Visualisation 2D: faux positifs ABC en noir.....	80

Références

- [1] Weltgesundheitsorganisation. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017.
- [2] Laurent C, Baron M, Amara N, Haioun C, Dandoit M, Maynadié M, et al. Impact of Expert Pathologic Review of Lymphoma Diagnosis: Study of Patients From the French Lymphopath Network. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2017;35:2008–17. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.2083>.
- [3] Molina TJ. Physiopathologie des lymphomes diffus à grandes cellules B. *Hématologie* 2009;15:214–22. <https://doi.org/10.1684/hma.2009.0363>.
- [4] Salaverria I, Philipp C, Oschlies I, Kohler CW, Kreuz M, Szczepanowski M, et al. Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults. *Blood* 2011;118:139–47. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-330795>.
- [5] The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A Clinical Evaluation of the International Lymphoma Study Group Classification of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 1997;89:3909–18. <https://doi.org/10.1182/blood.V89.11.3909>.
- [6] Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol* 2016. <https://doi.org/10.1200/JCO.1998.16.8.2780>.
- [7] Sehn LH, Gascoyne RD. Diffuse large B-cell lymphoma: optimizing outcome in the context of clinical and biologic heterogeneity. *Blood* 2015;125:22–32. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-577189>.
- [8] Fu K, Weisenburger DD, Choi WWL, Perry KD, Smith LM, Shi X, et al. Addition of rituximab to standard chemotherapy improves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2008;26:4587–94. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.9277>.
- [9] Horvat M, Zadnik V, Južnič Šetina T, Boltežar L, Pahole Goličnik J, Novaković S, et al. Diffuse large B-cell lymphoma: 10 years' real-world clinical experience with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone. *Oncol Lett* 2018;15:3602–9. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.7774>.
- [10] Zhou Z, Sehn LH, Rademaker AW, Gordon LI, Lacasce AS, Crosby-Thompson A, et al. An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood* 2014;123:837–42. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-524108>.
- [11] Tilly H, Vitolo U, Walewski J, da Silva MG, Shpilberg O, André M, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for

- diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2012;23 Suppl 7:vii78-82. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds273>.
- [12] Vitolo U, Seymour JF, Martelli M, Illerhaus G, Illidge T, Zucca E, et al. Extranodal diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and primary mediastinal B-cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol* 2016;27:v91–102. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw175>.
- [13] Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS, Dave SS, Wright G, Grant N, et al. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2009;113:6069–76. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-01-199679>.
- [14] Nowakowski GS, LaPlant B, Macon WR, Reeder CB, Foran JM, Nelson GD, et al. Lenalidomide Combined With R-CHOP Overcomes Negative Prognostic Impact of Non-Germinal Center B-Cell Phenotype in Newly Diagnosed Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Phase II Study. *J Clin Oncol* 2015;33:251–7. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.55.5714>.
- [15] Nowakowski GS, LaPlant B, Habermann TM, Rivera CE, Macon WR, Inwards DJ, et al. Lenalidomide can be safely combined with R-CHOP (R2CHOP) in the initial chemotherapy for aggressive B-cell lymphomas: phase I study. *Leukemia* 2011;25:1877–81. <https://doi.org/10.1038/leu.2011.165>.
- [16] Wilson WH, Young RM, Schmitz R, Yang Y, Pittaluga S, Wright G, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med* 2015;21:922–6. <https://doi.org/10.1038/nm.3884>.
- [17] Leonard JP, Kolibaba KS, Reeves JA, Tulpule A, Flinn IW, Kolevska T, et al. Randomized Phase II Study of R-CHOP With or Without Bortezomib in Previously Untreated Patients With Non-Germinal Center B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2017;35:3538–46. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.2784>.
- [18] Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, et al. The Use of Molecular Profiling to Predict Survival after Chemotherapy for Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:1937–47. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012914>.
- [19] Engelhard M, Brittinger G, Huhn D, Gerhartz HH, Meusers P, Siegert W, et al. Subclassification of Diffuse Large B-Cell Lymphomas According to the Kiel Classification: Distinction of Centroblastic and Immunoblastic Lymphomas Is a Significant Prognostic Risk Factor. *Blood* 1997;89:2291–7. <https://doi.org/10.1182/blood.V89.7.2291>.
- [20] Ott G, Ziepert M, Klapper W, Horn H, Szczepanowski M, Bernd H-W, et al. Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. *Blood* 2010;116:4916–25. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-03-276766>.
- [21] Haralambieva E, Pulford KAF, Lamant L, Pileri S, Roncador G, Gatter KC, et al. Anaplastic large-cell lymphomas of B-cell phenotype are anaplastic lymphoma kinase (ALK) negative and belong to the spectrum of diffuse large B-cell

- lymphomas. *Br J Haematol* 2000;109:584–91. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2000.02045.x>.
- [22] Slack GW, Steidl C, Sehn LH, Gascoyne RD. CD30 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study from British Columbia. *Br J Haematol* 2014;167:608–17. <https://doi.org/10.1111/bjh.13085>.
- [23] Zeng W, Fu K, Quintanilla-Fend L, Lim M, Ondrejka S, Hsi ED. Cyclin D1-negative blastoid mantle cell lymphoma identified by SOX11 expression. *Am J Surg Pathol* 2012;36:214–9. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e318241f050>.
- [24] Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2012;30:3452–9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.41.0985>.
- [25] Berglund M, Thunberg U, Amini R-M, Book M, Roos G, Erlanson M, et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 2005;18:1113–20. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800396>.
- [26] Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;101:78–84. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-04-1286>.
- [27] Hasselblom S, Ridell B, Sigurdardottir M, Hansson U, Nilsson-Ehle H, Andersson P-O. Low rather than high Ki-67 protein expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2008;49:1501–9. <https://doi.org/10.1080/10428190802140055>.
- [28] Klien U, Goasens T, Fischer M, Kanzler H, Braeuninger A, Rajewsky K, et al. Somatic hypermutation in normal and transformed human B cells. *Immunol Rev* 1998;162:261–80. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01447.x>.
- [29] Basso K, Dalla-Favera R. Germinal centres and B cell lymphomagenesis. *Nat Rev Immunol* 2015;15:172–84. <https://doi.org/10.1038/nri3814>.
- [30] Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503–11. <https://doi.org/10.1038/35000501>.
- [31] Rosenwald A, Wright G, Leroy K, Yu X, Gaulard P, Gascoyne RD, et al. Molecular Diagnosis of Primary Mediastinal B Cell Lymphoma Identifies a Clinically Favorable Subgroup of Diffuse Large B Cell Lymphoma Related to Hodgkin Lymphoma. *J Exp Med* 2003;198:851–62. <https://doi.org/10.1084/jem.20031074>.
- [32] Hans CP. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103:275–82. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-05-1545>.
- [33] Visco C, Li Y, Xu-Monette ZY, Miranda RN, Green TM, Li Y, et al. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: a report from the International

- DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia* 2012;26:2103–13. <https://doi.org/10.1038/leu.2012.83>.
- [34] Choi WWL, Weisenburger DD, Greiner TC, Piris MA, Banham AH, Delabie J, et al. A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2009;15:5494–502. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0113>.
- [35] de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A, et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2007;25:805–12. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.09.4490>.
- [36] Bobée V, Ruminy P, Marchand V, Viailly P-J, Abdel Sater A, Veresezan L, et al. Determination of Molecular Subtypes of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Using a Reverse Transcriptase Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Classifier. *J Mol Diagn* 2017;19:892–904. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.07.007>.
- [37] Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih C-J, Walsh W, Jaffe ES, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood* 2014;123:1214–7. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-536433>.
- [38] Lennert K, Feller AC. *Histopathology of non-Hodgkin Lymphomas: based on the updated Kiel classification*. 2nd completely rev. ed. Berlin ; New York: Springer-Verlag; 1992.
- [39] Choi RY, Coyner AS, Kalpathy-Cramer J, Chiang MF, Campbell JP. *Introduction to Machine Learning, Neural Networks, and Deep Learning*. Neural Netw n.d.:12.
- [40] *Deep Learning Fundamentals - Classic Edition* n.d. https://deeplizard.com/learn/playlist/PLZbbT5o_s2xq7Lwl2y8_QtvuXZedL6tQU (accessed March 29, 2022).
- [41] Riasatian A, Babaie M, Maleki D, Kalra S, Valipour M, Hemati S, et al. Fine-Tuning and training of densenet for histopathology image representation using TCGA diagnostic slides. *Med Image Anal* 2021;70:102032. <https://doi.org/10.1016/j.media.2021.102032>.
- [42] Huang G, Liu Z, van der Maaten L, Weinberger KQ. *Densely Connected Convolutional Networks*. ArXiv160806993 Cs 2018.
- [43] Deng J, Dong W, Socher R, Li L-J, Li K, Fei-Fei L. *Imagenet: A large-scale hierarchical image database*. 2009 IEEE Conf. Comput. Vis. Pattern Recognit., leee; 2009, p. 248–55.
- [44] Galateau Salle F, Le Stang N, Tirode F, Courtiol P, Nicholson AG, Tsao M-S, et al. Comprehensive Molecular and Pathologic Evaluation of Transitional Mesothelioma Assisted by Deep Learning Approach: A Multi-Institutional Study of the International Mesothelioma Panel from the MESOPATH Reference Center. *J Thorac Oncol* 2020;15:1037–53. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.01.025>.

- [45] Syrykh C, Abreu A, Amara N, Siegfried A, Maisongrosse V, Frenois FX, et al. Accurate diagnosis of lymphoma on whole-slide histopathology images using deep learning. *Npj Digit Med* 2020;3:1–8. <https://doi.org/10.1038/s41746-020-0272-0>.
- [46] Steinbuss G, Kriegsmann M, Zgorzelski C, Brobeil A, Goeppert B, Dietrich S, et al. Deep Learning for the Classification of Non-Hodgkin Lymphoma on Histopathological Images. *Cancers* 2021;13:2419. <https://doi.org/10.3390/cancers13102419>.
- [47] Achi HE, Belousova T, Chen L, Wahed A, Wang I, Hu Z, et al. Automated Diagnosis of Lymphoma with Digital Pathology Images Using Deep Learning. *Ann Clin Lab Sci* 2019;49:153–60.
- [48] Li D, Bledsoe JR, Zeng Y, Liu W, Hu Y, Bi K, et al. A deep learning diagnostic platform for diffuse large B-cell lymphoma with high accuracy across multiple hospitals. *Nat Commun* 2020;11:6004. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19817-3>.
- [49] Swiderska-Chadaj Z, Hebeda KM, van den Brand M, Litjens G. Artificial intelligence to detect MYC translocation in slides of diffuse large B-cell lymphoma. *Virchows Arch* 2021;479:617–21. <https://doi.org/10.1007/s00428-020-02931-4>.
- [50] Gutiérrez-García G, Cardesa-Salzman T, Climent F, González-Barca E, Mercadal S, Mate JL, et al. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood* 2011;117:4836–43. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-322362>.
- [51] Holdhoff M, Mrugala MM, Grommes C, Kaley TJ, Swinnen LJ, Perez-Heydrich C, et al. Challenges in the Treatment of Newly Diagnosed and Recurrent Primary Central Nervous System Lymphoma. *J Natl Compr Canc Netw* 2020;18:1571–8. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2020.7667>.
- [52] Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, et al. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2011;29:200–7. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.30.0368>.

AUTEUR : Nom : PETIT

Prénom : Marianne

Date de Soutenance : 25/04/2022

Titre de la Thèse : Classification COO (GCB/ABC) des lymphomes non hodgkiniens B diffus à grandes cellules par intelligence artificielle

Thèse - Médecine - Lille 2022

Cadre de classement : Anatomie et Cytologie pathologiques

DES + FST ou option : Anatomie et Cytologie pathologiques

Mots-clés : lymphomes B, *DLBCL*, HES, intelligence artificielle, *deep learning*

Résumé :

Contexte : les lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL) sont les lymphomes non hodgkiniens les plus fréquents. Ils forment un groupe très hétérogène, notamment en termes de pronostic. Ils comprennent notamment 2 sous-types moléculaires selon la classification Cell of Origin (COO) : le groupe GCB (Germinal Center B-Cell), de meilleur pronostic, et le groupe ABC (Activated B-Cell), de moins bon pronostic. L'aspect morphologique sur lames HES (hémalun éosine safran) n'est plus utilisé pour différencier ces sous-types. L'algorithme de Hans, complémentaire, basé sur l'immunohistochimie, permet cette classification. C'est une méthode rapide mais qui comporte 15% de discordance par rapport à la méthode moléculaire de référence. La technique par RTMLPA permet également cette classification, avec beaucoup plus de précision, mais avec un délai de rendu plus long. Des algorithmes d'intelligence artificielle (IA), d'exécution très rapide, basés sur des images histopathologiques, ont été développés avec de bonnes performances pour résoudre diverses problématiques, mais pour le moment aucun n'a été développé pour la classification COO des DLBCL.

Matériel et Méthodes : nous avons étudié les cas de DLBCL diagnostiqués au CHRU de Lille entre le 1^{er} décembre 2010 et le 31 décembre 2020 et ayant bénéficié d'une classification COO par technique RTMLPA, constituant notre gold standard. Nous avons effectué une relecture histologique de ces cas, pour déterminer leur aspect morphologique sur lames HES et pour les classer selon l'algorithme de Hans. Nous avons également scanné puis annoté les lames HES puis entraîné un modèle d'IA pour classer les images obtenues en deux classes, ABC et GCB.

Résultats : 204 cas ont été inclus. Au total, un taux de concordance de 67% a été obtenu entre la morphologie déterminée sur l'HES par le pathologiste expérimenté et la RTMLPA. Un taux de concordance de 84% a été obtenu entre le résultat de l'algorithme de Hans et le résultat de la RTMLPA. Le modèle KimiaNet optimisé a obtenu un taux d'exactitude de 79% sur le jeu de données indépendant utilisé pour la phase de test.

Conclusion : au total, la classification COO des DLBCL par intelligence artificielle sur lames histopathologiques est possible avec un bon taux d'exactitude et une grande rapidité. Cependant, ces résultats doivent encore être améliorés pour pouvoir être utilisés en routine, il faudrait notamment augmenter le taux d'exactitude et supprimer l'étape d'annotation des lames.

Composition du Jury :

Président : Madame le Professeur Emmanuelle LETEURTRE

Assesseurs : Monsieur le Professeur Abdelmalik TALEB-AHMED
Monsieur le Docteur Jean-Baptiste GIBIER

Directeur : Monsieur le Docteur Romain DUBOIS